Aus der Abteilung für Urologie
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. K.H. Bichler
der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
der Universität Tübingen

Vitamin A-Mangel und sein Einfluss auf das Verhalten von Uromukoid und anderer für die Harnsteingenese relevanter Parameter bei Ratten

INAUGURAL—DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
WALTER LUDWIG STROHMAIER
aus Stuttgart

1983

UNIV.
LEIDEN

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547612_0048

Aus der Abteilung für Urologie
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. K.H. Bichler
der Chirurgischen Klinik und Poliklinik
der Universität Tübingen

Vitamin A-Mangel und sein Einfluss auf das Verhalten von Uromukoid und anderer für die Harnsteingenese relevanter Parameter bei Ratten

INAUGURAL—DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
WALTER LUDWIG STROHMAIER
aus Stuttgart

1983

Dekan:	Professor Dr. D. Plester
1. Berichterstatter:	Professor Dr. K.H. Bichler
2. Berichterstatter:	Professor Dr. M. Eggstein

gedruckt bei H.- J. Köhler · Reprografischer Betrieb · Tübingen

Meinen Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1	EINLEITUNG	1
2	UNTERSUCHUNGSMATERIAL	5
2.1	Überblick	5
2.2	Erste Serie	6
2.3	Zweite Serie	6
2.3.1	Kollektiv der Vitamin A-Mangeltiere	7
2.3.2	Kollektiv der Pair-fed-Tiere	7
2.3.3	Kollektiv der Normaltiere	8
3	UNTERSUCHUNGSMETHODEN	9
3.1	Aufbereitung des Rattenurins	9
3.2	Bestimmung der Kalzium- und Magnesium-konzentrationen im Urin	9
3.3	Bestimmung der Phosphorkonzentration im Urin	9
3.4	Bestimmung der Harnsäurekonzentration im Urin	10
3.5	Bestimmung der Zitratkonzentration im Urin nach KNAPPWOST	11
3.6	Bestimmung der sauren Mukopolysaccharide im Urin nach BLUMENKRANTZ/ASBOE-HANSEN	12
3.7	Bestimmung der Gesamteiweißkonzentration	13
3.8	Bestimmung der Albuminkonzentration im Urin	14
3.8.1	Kreuzreaktion zwischen Humanalbumin und Rattenalbumin (Tandem-Immunelektrophorese nach KRØLL)	14
3.8.2	Elektroimmundiffusion nach LAURELL	17
3.9	Bestimmung der Uromukoidkonzentration im Urin modifiziert nach KIRCHNER/BICHLER (Elektroimmundiffusion nach LAURELL)	19
3.9.1	Vorbehandlung des Poolurins für die Standardisierung der Uromukoidbestimmung	19

Seite

3.9.1.1 Funktionsweise der "Kollodiumhülsen-Ultrafiltration" 19
3.9.2 Elektroimmundiffusion nach LAURELL 20
3.10 Radioimmunoassay für $ß_2$-Mikroglobulin 22
3.11 Untersuchung des Urinsediments 22
3.12 Harnsteinanalyse 23
3.13 Vitamin A-Bestimmung 23
3.14 Röntgenaufnahmen 23
3.15 Sektion und pathohistologische Untersuchung 24
3.16 Immunfluoreszenzhistologie zur Lokalistaion von Uromukoid nach BICHLER/KIRCHNER 24
3.17 Statistische Auswertung 25

4 ERGEBNISSE 26
4.1 Acht-Stunden-Volumina 26
4.2 Urin-pH-Wert 26
4.3 Kalzium im Urin 26
4.4 Magnesium im Urin 28
4.5 Phosphor im Urin 28
4.6 Harnsäure im Urin 33
4.7 Zitrat im Urin 33
4.8 AMPS im Urin 33
4.9 Gesamteiweiß im Urin 38
4.10 Albumin 38
4.10.1 Kreuzreaktion zwischen Human- und Rattenalbumin 38
4.10.2 Albumin im Urin 38
4.11 Uromukoid im Urin 42
4.12 $ß_2$-Mikroglobulin im Urin 46
4.13 Urinsediment 46
4.14 Vitamin A-Bestimmung 46
4.15 Körpergewichtsentwicklung 48
4.16 Sektion und pathohistologische Untersuchung 48
4.16.1 Sektion 48
4.16.2 Pathohistologische Untersuchung 51
4.17 Röntgenaufnahmen 52
4.18 Immunfluoreszenzhistologie 52

Seite

4.19 Steinanalyse 52

5 DISKUSSION 54
5.1 Acht-Stunden-Urin-Volumen 54
5.2 Urin-pH-Wert 54
5.3 Uromukoid 55
5.4 Kalzium- und Phosphatausscheidung im Urin 60
5.5 Magnesium im Urin 65
5.6 Harnsäure im Urin 66
5.7 Zitrat im Urin 66
5.8 Saure Mukopolysaccharide (AMPS) im Urin 67
5.9 Gesamteiweiß im Urin 69
5.10 Albumin im Urin 69
5.11 $ß_2$-Mikroglobulin im Urin 70
5.12 Urinsediment 72
5.13 Sektion und pathohistologische Untersuchung 72
5.14 Steinbildung 74

6 ZUSAMMENFASSUNG 78

7 ANHANG: TABELLEN 81

8 LITERATURVERZEICHNIS 105

1 EINLEITUNG

Auch heute noch sind die entscheidenden Schritte in der Pathogenese der Urolithiasis ungeklärt. Abgesehen von der Übersättigung des Urins mit Kalzium bei Harnsteinträgern sind bakteriell entzündliche Veränderungen an der Niere und den ableitenden Harnwegen - vor allem durch Keime, die Urease produzieren - sowie Schädigungen des Nierenparenchyms, ganz besonders der Tubuli, von Bedeutung.

Wenngleich der pathogenetische Mechanismus, der letztendlich zur Steinbildung führt, nicht in allen Einzelheiten erforscht ist, so konnte doch der Einfluß einer Reihe von Faktoren auf die pathologischen Veränderungen erkannt werden.

Speziell im Zusammenhang mit der Ausbildung der sogenannten Harnsteinmatrix wird immer wieder die Bedeutung saurer Mukoproteine im Tubulusbereich diskutiert. In erster Linie sind hierbei das TAMM-HORSFALL-Glykoprotein (119) oder ähnliche Substanzen wie das Uromukoid (31) zu erwähnen. Diesen Glykoproteinen werden verschiedene mögliche Funktionen zugeschrieben: So hemmen sie die virale Hämagglutination (119,120), wirken möglicherweise protektiv auf die Tubulusepithelzellen (10,12,13), sind am tubulären Elektrolyttransport beteiligt (12,54) bzw. beeinflussen die Entstehung von Harnkonkrementen (12,54).

In früheren Untersuchungen wurde die quantitative Ausscheidung von Uromukoid im Urin von Harnsteinpatienten und Normalpersonen bestimmt (10,13,15). Dabei zeigte sich, daß Patienten mit Harnsäure- und Nierenbeckenausgußsteinen bei renaler tubulärer Azidose (RTA) signifikant weniger Uromukoid im Urin ausschieden als Kontroll-

UNIV. LEIDEN MED.

personen. Die schwere Schädigung des Tubulusapparates bei den genanten Erkrankungen scheint offensichtlich Ursache des Uromukoiddefizits zu sein. Inwieweit diese Substanz die Harnsteinbildung beeinflußt, kann nur vermutet werden. Im Zusammenhang mit der Diskussion um die Bedeutung des TAMM-HORSFALL-Proteins für die Lithogenese stellte sich die Frage, ob die Synthese bzw. Ausscheidung dieses Glykoproteins bestimmten Steuerungsvorgängen unterliegt.

Immerhin konnte DE LUCA (89) zeigen, daß die Biosynthese einer ganzen Reihe von Glykoproteinen durch Vitamin A beeinflußt wird. Die Fragestellung dieser Arbeit war nun, ob Vitamin A auch die Synthese und Ausscheidung der sauren Mukoproteine im Urin beeinflußt.

Frühere Untersuchungen, z.B. von OSBORNE u.a. (102), zeigten, daß Ratten, die nicht ausreichend mit dem sog. fettlöslichen Faktor A versorgt wurden, vermehrt Harnsteine bildeten. Diesen Befund führten die Autoren auf eine Infektion des Harntraktes mit ureasebildenden Keimen infolge allgemeiner Resistenzminderung der Tiere zurück. GOLDBLATT und BENISCHEK (59) konnten später zeigen, daß die Komponente des "fettlöslichen Faktors A", die in Abwesenheit zu Harnsteinen führte, Vitamin A war. Seitdem wurden zahlreiche Untersuchungen durchgeführt, die den Zusammenhang zwischen Vitamin A-Mangel und Urolithiasis bzw. epithelialer Defekte im Harntrakt klären sollten (19,56,58,68,85,86,92,93,100,121). Die Ergebnisse waren recht unterschiedlich, teilweise sogar widersprüchlich, so daß diese Frage offen geblieben ist.

Ein besonderes Problem bietet dabei die Definition des Vitamin A-Mangels: So traten verschiedene Symptome der Unterversorgung (Hemeralopie, Eisenstoffwechselstörungen, Wachstumsverzögerungen) bei unterschiedlichen Plasmakonzentrationen des Vitamins auf:

Veränderungen der Dunkeladaptation fanden sich bei Plasmawerten von 10 - 50 µg / dl(33) (1 Internationale Einheit (IE) = 0,3 µg Retinol (47)), Eisenstoffwechselstörungen unterhalb von 40 µg / dl (70). Mütter, deren Plasmawerte unter 28 µg / dl lagen, gebaren gehäuft Kinder mit erniedrigtem Geburtsgewicht (46).
Nach BRUBACHER (33) ist es für klinische Zwecke angebracht, von einer Vitamin A-Mangelsituation dann zu sprechen, wenn die Plasmakonzentration unter 40 µg / dl liegt. Die Normalwerte liegen bei 84 µg / dl ($\pm$ 18)+ für Männer und 72 µg / dl ($\pm$ 19)+ für Frauen (34).

Während die molekularen Mechanismen des Vitamin A beim Sehvorgang weitgehend geklärt sind (123), besteht bezüglich der Funktion dieses Vitamins im Stoffwechsel epithelialer Gewebe, insbesondere der Nieren und ableitenden Harnwege, noch keine Klarheit. DE LUCA (89) zeigte eine Beteiligung des Vitamin A an der Biosynthese von Glykoproteinen in mehreren Gewebearten der Ratte. Auf Grund seiner Ergebnisse postulierte er, daß Retinol in seiner aktivierten Form (als Retinylphosphat) als Überträger von Zuckerresten fungiere.

Ausgehend von der Frage nach der Bedeutung saurer Mukoproteine wie dem Uromukoid für die Harnsteinbildung und der möglichen Beeinflussung dieser Mukoproteine durch Vitamin A wurde in einem Tiermodell der Einfluß einer Vitamin A-Vermangelung bei der Ratte untersucht.
Diese Fragestellung ist auf dem Hintergrund der älteren Literatur (19,56,58,68,85.86,92,93,100,121) zum Vitamin A-Mangel als Ursache von Harnsteinen von besonderem Interesse.

+ Standardabweichung der Einzelwerte

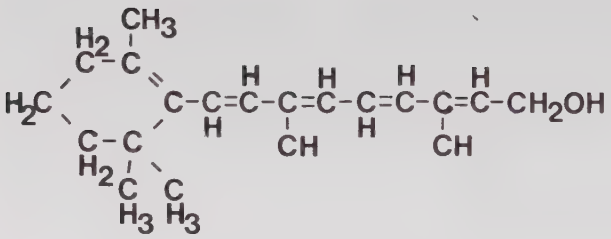


Abb. 1: Chemische Struktur des Vitamin A (Retinol) (nach 86)

2 UNTERSUCHUNGSMATERIAL

2.1 Überblick

Zur Untersuchung der Fragestellung dieser Arbeit wurden zwei Versuchsserien durchgeführt mit insgesamt 121 männlichen Fü-Albinoratten, einer speziellen Nachzucht der Rasse Wistar. Die Elterntiere der Ratten erhielten keine zusätzlichen Vitamin A-Gaben zum konventionellen Futter (NAFAG 854 +), um zu vermeiden, daß die Versuchstiere bereits bei der Geburt große Vitamin A-Speicher in der Leber angelegt hatten. Die Ratten wurden während der Versuchszeit in Drahtkäfigen gehalten, die Raumtemperatur betrug 27 °C, die relative Luftfeuchtigkeit 45 %. Die Luft wurde 15mal in einer Stunde umgewälzt.

Während der Urinsammelperioden wurden die Tiere für acht Stunden pro Tag in Stoffwechselkäfige gesetzt. In dieser Zeit wurde den Tieren jegliches Futter entzogen, um eine Kontamination des Urins mit Nahrungsbestandteilen zu vermeiden. Dadurch hätten die Analysen gestört werden können. Aus dem gleichen Grund wurden die Käfige nicht mit Einstreumaterial versehen. Um eine ausreichende Diurese zu gewährleisten, wurde den Tieren Trinkwasser in beliebiger Menge angeboten. Die Tränken waren so angebracht, daß der Urin nicht mit Wasser verdünnt werden konnte. Die Urinsammlung wurde beendet, wenn pro Tier ein ausreichendes Volumen (ca. 15 - 25 ml) für die Durchführung der Analysen zur Verfügung stand.

Über die ganze Versuchsdauer hinweg wurde täglich das Körpergewicht der Tiere bestimmt. Am Ende des Versuches wurden alle Tiere mittels letaler Äthernarkose getötet.

+ Hoffmann-La Roche & Co AG, Basel/Schweiz

2.2 Erste Serie

Die erste Serie bestand aus 20 Tieren (N 51 - N 70). Zu Beginn des Versuchs waren die Ratten sechs Wochen alt, bis dahin wurden sie konventionell aufgezogen und mit NAFAG 854 ohne zusätzliche Vitamin A-Gabe ernährt. Während des Versuchs wurden sie mit einem Vitamin A-freien Futter (A 103+) versorgt. Die Zusammensetzung dieser Diät zeigt Tab. 1. Zusätzlich erhielten sie eine dem physiologischen Bedarf entsprechende Menge Vitamin A (100 IE / Tag), in 0,1 ml Arachisöl gelöst, mit der Schlundsonde.

Zwei Urinsammelperioden wurden angesetzt: die erste (C 1: 28.08. - 22.09.1980) im Alter von acht bis zwölf Wochen, die zweite (C 2: 21.10. - 12.11.1980) im Alter von fünfzehn bis achtzehn Wochen.

Die erste Serie wurde durchgeführt, um einmal Poolurin für die Standardisierung der Uromukoidbestimmung (siehe 3.9) herzustellen, zum anderen um einen Überblick über die physiologische Entwicklung der untersuchten Parameter während des Wachstums zu bekommen.

2.3 Zweite Serie

Die Versuchstiere der zweiten Serie (TS 2, n = 101) wurden in drei verschiedene Kollektive eingeteilt:

- Vitamin A-Mangelkollektiv (n = 50, 1.01 - 1.50)
- Pair-fed-Kollektiv (n = 25, 2.51 - 2.75)
- Normalkollektiv (n = 26, 3.76 - 3.101)

+ Hoffmann-La Roche & Co AG, Basel / Schweiz

Zu Beginn des Versuchs waren die Ratten ungefähr neun Wochen alt, bis dahin wurden sie konventionell aufgezogen und mit NAFAG 854 ohne zusätzliche Vitamin A-Gaben ernährt. Ab einem Alter von 14 Wochen wurden die Tiere abwechslungsweise in Stoffwechselkäfige gesetzt.

Insgesamt wurden zwei Sammelperioden angesetzt (C 1: 01.04. - 22.04.1981, C 2: 21.05. - 26.06.1981), wobei jeweils von zwölf Tieren pro Kollektiv Urin gewonnen wurde.

2.3.1 Kollektiv der Vitamin A-Mangeltiere

Das Vitamin A-Mangelkollektiv bestand aus 50 Tieren (1.01 - 1.50). Die Tiere wurden mit dem Vitamin A-freien Futter A 103 ernährt.

Um einen chronischen Vitamin A-Mangel und ein Überleben für möglichst viele Wochen zu gewährleisten, erhielten die Ratten bei Gewichtsabnahme - einem sensiblen Indikator des Vitamin A-Status - jeweils 0,5 bis 2,0 IE Vitamin A pro Tag, gelöst in 0,1 ml Arachisöl, mit der Schlundsonde. Trotz dieser Maßnahme starben 35 Tiere während des Versuchs.

Die Futteraufnahme von 10 Tieren dieses Kollektivs wurde täglich kontrolliert, um den mittleren Futterbedarf für das Pair-fed-Kollektiv (siehe 2.3.2) zu erfassen.

2.3.2 Kollektiv der Pair-fed-Tiere

Das Pair-fed-Kollektiv bestand aus 25 Tieren (2.51 - 2.75). Dieses Kollektiv wurde ebenfalls mit A 103 ernährt, jedoch wurde den einzelnen Tieren nur soviel pro Tag

angeboten, wie ein Tier der Mangelgruppe durchschnittlich am Tag fraß (pair feeding nach HEDENBERG (68)).

Mit der Methode des pair feeding soll erreicht werden, daß die gemessenen Unterschiede bei den Analysen tatsächlich auf die A-Hypovitaminose und nicht auf die verminderte Nahrungsaufnahme im Vitamin A-Mangel zurückgeführt werden können.

2.3.3 Kollektiv der Normaltiere

Das Normalkollektiv bestand aus 26 Tieren (3.76 - 3.101). Die Ernährung bestand aus A 103, das den Tieren in beliebiger Menge (im Gegensatz zu den Pair-fed-Tieren) angeboten wurde. Zusätzlich erhielten sie eine dem physiologischen Bedarf entsprechende Menge Vitamin A (100 IE / Tag) mit der Schlundsonde verabreicht.

3 UNTERSUCHUNGSMETHODEN

3.1 Aufbereitung des Rattenurins

Der Sammelurin der Ratten wurde asserviert und bei - 20 °C tiefgefroren. Nach dem Auftauen wurde von jedem Urin das Volumen bestimmt. Das ermittelte Gesamtvolumen wurde durch die Anzahl der Sammeltage dividiert. So ergab sich das durchschnittliche Acht-Stunden-Volumen. Die Bestimmung des pH-Wertes erfolgte mit der Einstabglaselektrode+.

3.2 Bestimmung der Kalzium- und Magnesiumkonzentrationen im Urin

Die Bestimmung der Konzentrationen von Kalzium und Magnesium im Urin wurde mit Hilfe des Elektrolytautomaten FL 6 ++ durchgeführt. Diese Methode basiert auf dem Prinzip der Atomabsorption. Die Durchführung der Bestimmungsmethode ist ausführlich in der Bedienungsanleitung der Herstellerfirma beschrieben.

Die Acht-Stunden-Ausscheidung von Kalzium und Magnesium im Urin errechnet sich, indem man die Konzentration (in mg/dl) mit dem Acht-Stunden-Volumen (in dl) multipliziert.

3.3 Bestimmung der Phosphorkonzentration im Urin

Die Phosphorkonzentration im Urin wurde mit Hilfe der

\+ PHM Research pH-Meter, Radiometer Copenhagen/Dänemark

++ Zeiss, Oberkochen/Württemberg

Test-Combination Phosphor, Phospholipide[+] (anorganischer Phosphor) gemessen. Das Testprinzip beruht darauf, daß Phosphor in salpetersaurer Lösung mit Molybdat und Vanadat einen Farbkomplex bildet, dessen Extinktion bei einer Wellenlänge von 405 nm photometrisch bestimmt wird. Genaue Angaben zur Durchführung der Methode sind in der Anleitung der Herstellerfirma beschrieben.

Die Acht-Stunden-Ausscheidung von Phosphor im Urin errechnet sich analog 3.2.

3.4 Bestimmung der Harnsäurekonzentration im Urin

Die Bestimmung der Harnsäurekonzentration im Urin wurde mit der Test-Combination Urica-quant[R] [+] durchgeführt. Das Testprinzip besteht darin, daß das Enzym Urikase Harnsäure in Gegenwart von Wasser und Sauerstoff in Allantoin und Wasserstoffperoxid überführt. Katalase katalysiert die anschließende Reaktion von Wasserstoffperoxid mit Methanol zu Formaldehyd und Wasser. Formaldehyd reagiert mit Azetylazeton und Ammoniak zu 3,5-Diazetyl-1,4-dihydrolutidin und Wasser. Die Extinktion von 3,5-Diazetyl-1,4-dihydrolutidin wird bei einer Wellenlänge von 405 nm photometrisch bestimmt. Eine ausführliche Beschreibung der Methode findet man in der Arbeitsanleitung der Herstellerfirma.

Die Acht-Stunden-Ausscheidung der Harnsäure im Urin errechnet sich analog 3.2.

+ Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim

3.5 Bestimmung der Zitratkonzentration im Urin nach KNAPPWOST (79)

Standards: Zitronensäure wird in Konzentrationen von 100, 200, 300 und 400 mg/dl in aqua dest. gelöst. Jeweils 0,2 ml dieser Lösungen werden in einem 50 ml-Scheidetrichter mit PTFE-Küken mit 4 ml aqua dest., 5 ml 33 n Schwefelsäure und 5 ml Bromid-Bromat-Vanadatlösung auf einer Schüttelmaschine 25 Minuten lang geschüttelt.

Nach Zusatz von 2 ml Eisen(II)-sulfatlösung wird für weitere 10 Minuten geschüttelt. Die Lösung wird mit 7 ml Isooktan überschichtet und zwei Minuten lang geschüttelt. Die wäßrige Phase wird anschließend verworfen. Die Isooktanphase wird mit 10 ml aqua dest. für zwei Minuten geschüttelt. Das Waschwasser wird ebenfalls verworfen. Die Isooktanphase wird mit einer Spatelspitze Natriumsulfat getrocknet. Anschließend werden von der Isooktanphase 5 ml entnommen und mit 4 ml Sulfidlösung zwei Minuten lang geschüttelt. Hierbei färbt sich die wäßrige Phase orangegelb. Sie wird abgetrennt und in einer Glasküvette von 1 cm Schichtdicke bei einer Wellenlänge von 436 nm gegen aqua dest. photometriert. Die Zeit zwischen Durchführung der letzten Reaktion und Photometrieren muß zwischen 20 und 30 Minuten liegen und unbedingt immer konstant gehalten werden. Der Komplex wird während dieser Zeit bei Raumtemperatur aufbewahrt.

Proben: Mit den Proben wird wie mit den Standards verfahren, nur daß statt der Zitronensäurelösungen 0,2 ml Urin verwendet werden.

Standardkurve: Die Konzentration der Standards wird gegen die Extinktion auf Millimeterpapier aufgetragen. Im Idealfall ergibt sich eine Gerade. An dieser Geraden werden die Konzentrationen der Proben (in mg/dl) abgelesen.

Die Acht-Stunden-Ausscheidung von Zitrat im Urin errechnet sich analog 3.2.

Ausführliche Angaben zur Herstellung der verwendeten Lösungen und zur Durchführung der Methode finden sich bei KNAPPWOST (79).

3.6 Bestimmung der sauren Mukopolysaccharide (AMPS) im Urin nach BLUMENKRANTZ und ASBOE-HANSEN (20)

Standards: 10 mg Glukuronolakton werden in 10 ml aqua dest. gelöst. Von dieser Lösung werden folgende Verdünnungen hergestellt:

0,4 ml	Glukuronolaktonlösung	+ 1,6 ml	aqua	dest.
0,8 ml	"	+ 1,2 ml	"	
1,2 ml	"	+ 0,8 ml	"	
1,6 ml	"	+ 0,4 ml	"	

Zu diesen Verdünnungen gibt man jeweils 1,2 ml Schwefelsäure-Natriumtetraboratlösung. Danach werden die Proben in ein Eisbad gestellt, geschüttelt und anschließend fünf Minuten im Wasserbad gekocht. Nach erneutem Abkühlen im Wasserbad werden je 20 µl Metahydroxydiphenyl-Lösung einpipettiert. 10 Minuten später wird die Extinktion bei einer Wellenlänge von 520 nm photometrisch bestimmt.

Proben: Zunächst wird der Urin zentrifugiert, bis er klar ist. Für die Analyse benötigt man 6 ml des zentrifugierten Urins. Mit Salzsäure wird er auf einen pH-Wert von 5,0 titriert. Hernach pipettiert man 0,2 ml einer 5 %igen Lösung von Zetyltrimethylammoniumbromid dazu und schüttelt die Proben. Dann werden sie über Nacht in einen Kühlschrank gestellt. Während dieser Zeit bildet sich ein dicker Niederschlag. Deshalb werden die Proben am nächsten Morgen zentrifugiert, der Überstand wird abge-

saugt, und das Präzipitat wird mit 6 ml eines 95 %igen, mit NaCl gesättigten Alkohols (Äthanol) gewaschen. Dieser Vorgang wird zweimal wiederholt. Das letzte Präzipitat wird in 1 ml aqua dest. gelöst. Von dieser Lösung pipettiert man 0,2 ml in ein frisches Glasröhrchen und gibt 1,2 ml von der Schwefelsäure-Natriumtetraboratlösung dazu. Das weitere Vorgehen erfolgt wie oben bei den Standards beschrieben wurde.

Standardkurve: Die Konzentration der Standards (in µg/ml) wird gegen die Extinktion auf Millimeterpapier aufgetragen. Im Idealfall erhält man eine Gerade. Die Konzentrationen der Urinproben können an dieser Eichgeraden abgelesen werden. Der abgelesene Wert wird mit 5 multipliziert und durch 6 dividiert. So ergibt sich die Konzentration von AMPS in µg/ml Urin. Daraus errechnet man die Konzentration in 1 dl durch Multiplikation mit 100. Die Acht-Stunden-Ausscheidung erhält man analog 3.2

Eine genaue Beschreibung der Methode findet sich, insbesondere was die Herstellung der erforderlichen Lösungen anbetrifft, bei BLUMENKRANTZ und ASBOE-HANSEN (20).

3.7 Bestimmung der Gesamteiweißkonzentration

Bei allen Sammelurinen wurde die Gesamteiweißkonzentration mit Teststreifen (Rapignost^{R}-Protein^{+}) semiquantitativ bestimmt. Daneben erfassen diese Teststreifen auch den pH-Wert. Die Anwendung erfolgte gemäß der Gebrauchsanweisung der Herstellerfirma.

+ Behringwerke AG, Marburg/Lahn

3.8 Bestimmung der Albuminkonzentration im Urin

3.8.1 Kreuzreaktion zwischen Humanalbumin und Rattenalbumin (Tandem-Immunelektrophorese nach KRØLL (82)

Die Partialantigenität zwischen Humanalbumin und Rattenalbumin wurde mit der sogenannten Tandem-Immunelektrophorese nach KRØLL (82) dargestellt. Diese Immunelektrophorese ist eine besondere Form der zweidimensionalen Immunelektrophorese nach CLARKE und FREEMAN (zitiert nach (7)).

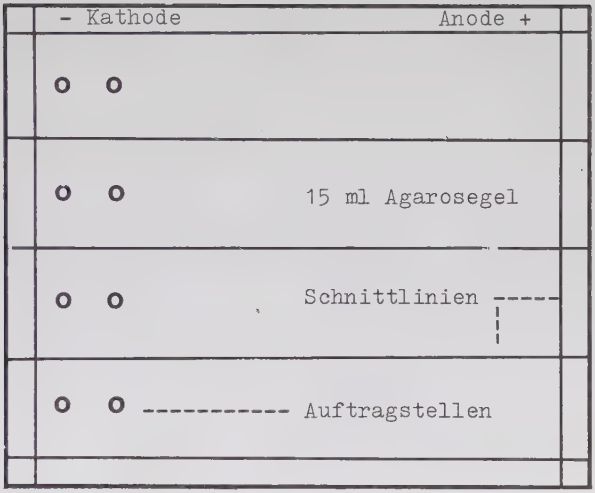
Puffer: 41,2 g Barbital-Natrium plus 8,0 g Barbital werden in 10 l aqua dest. gelöst.

Agarosegel: 1,5 g Agarose+ auf 100 ml Barbitalpuffer werden durch Erhitzen gelöst. Die Lösung wird bei 52 °C im Wasserbad deponiert. Sie muß unbedingt auf diese Temperatur abgekühlt werden, da sonst die Antikörper, die für die Durchführung der zweiten Dimension (siehe unten) darin gelöst werden, danaturieren würden.

Die erste Dimension erfolgt analog der Agarose-Screening-Elektrophorese zur Auftrennung verschiedener Proteinfraktionen. Allerdings werden pro Gelstreifen zwei Auftragstellen (Durchmesser 2,5 mm) im Abstand von 1 cm hintereinander ausgestanzt (siehe Schema 1). Dazu benötigt man Glasplatten mit 9 x 11 cm Kantenlänge, die mit 15 ml Agarosegel beschichtet werden, das keine Antikörper enthält.
Nach dem Erstarren des Gels werden die Auftragstellen ausgestanzt. Bei drei Gelstreifen werden die kathodennahen Auftragstellen mit je 5 µl (Stanzlochdurchmesser 2,5 mm) Rattenserum (1 : 16 verdünnt) gefüllt, die

---

+ Behringwerke AG, Marburg/Lahn



Schema 1: Erste Dimension der Tandem-Immunelektrophorese nach KRØLL (82)

anderen Auftragstellen mit je 5 µl Humanalbuminlösung+ (5 g/dl, 1:16 verdünnt). Die Auftragstellen des vierten Streifens füllt man mit Bromphenolblau-gefärbtem Albumin als Sichtkontrolle (vgl. BECKER (7)).

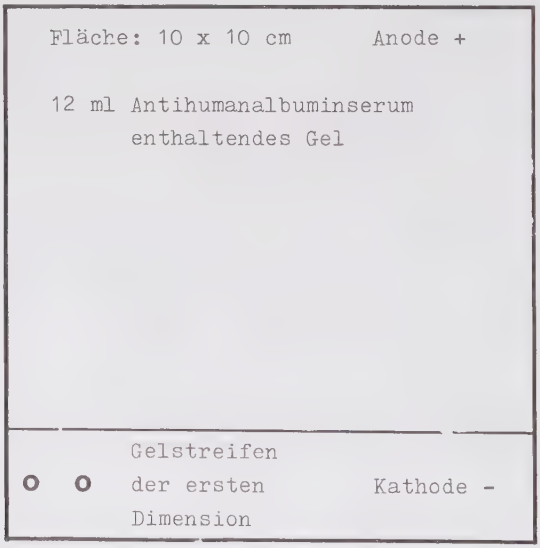
Nachdem die Lösungen ca. eine Stunde eindiffundiert sind, werden die Löcher mit einem kleinen Tropfen heißer Agaroselösung versiegelt.

Die Elektrophorese wird mit einer Feldstärke von 8 - 10 V/cm durchgeführt. Sie wird abgebrochen, wenn das gefärbte Albumin 6 - 7 cm weit gewandert ist. Das entspricht einer

+ Behringwerke AG, Marburg/Lahn

Laufzeit von ungefähr 1 - 1,5 Stunden. Danach schneidet man das Agarosegel nach Schema 1 in Streifen.

Die Streifen der ersten Dimension werden auf vorbereitete Glasplatten mit einer Seitenlänge von 10 x 10 cm übertragen. Die Anordnung zeigt Schema 2.
Nun werden 12 ml Agaroselösung, die Antihumanalbuminserum+ in 4 %iger Konzentration enthält, auf den freien Platz der Platte gegossen. Nach Erstarren des Gels startet man die Elektrophorese. Sie wird bei einer Ausgangsspannung von ca. 80 V mit einer Feldstärke von 2 - 3 V/cm über Nacht durchgeführt. Nach 8 bis 12 Stunden bricht man ab. Anschließend werden die Platten mit Coomassie Brillant Blue gefärbt.
Nähere Angaben zur Durchführung der Tandem-Immunelektrophorese findet man bei BECKER (7).



Schema 2: Zweite Dimension der Tandem-Immunelektrophorese nach KRØLL (82)

+ Behringwerke AG, Marburg/Lahn

3.8.2 Elektroimmundiffusion nach LAURELL (84, 124)

Puffer und Agarosegel werden wie unter 3.8.1 beschrieben hergestellt. Wenn die Agaroselösung auf 52 °C abgekühlt ist, werden je 15 ml Agaroselösung mit 600 µl Antihumanalbuminserum+ versetzt.

Glasplatten (Fläche 9 x 11 cm, Stärke 1 mm) werden mit 96 %igem Alkohol gereinigt und abgeflämmt. Anschließend werden sie auf einen exakt austarierten Horizontaltisch gelegt. Jetzt gießt man das gut durchmischte Agarose-Antiserumgemisch auf die Platten und läßt es erstarren. Danach werden die Auftragstellen gemäß Schema 3 mit einer Stanzkanüle (Durchmesser 2,5 mm), die mit einer Absaugevorrichtung kombiniert ist, ausgestanzt.

Die Albumin-Standard-Verdünnungsreihe mit den Verdünnungen 1:800, 1:400, 1:200 und 1:100 wird aus Standard-Humanserum+ hergestellt. Diese vier Konzentrationsstufen werden in die Auftragstellen (5 µl pro Loch) eingefüllt. Die übrigen Stanzlöcher werden für die zu bestimmenden Urinproben verwendet. Die Urine werden unverdünnt eingefüllt.

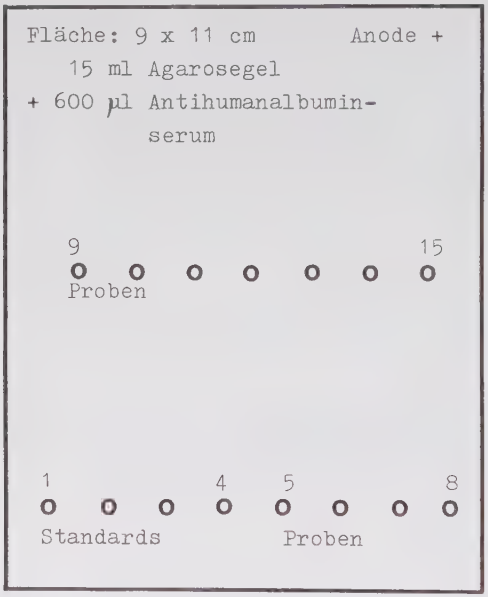
Die Elektrophorese wird mit oben beschriebenem Puffer bei einer Feldstärke von 7 - 10 V/cm durchgeführt. Sie dauert ca. drei Stunden. Die Platten werden anschließend mit Coomassie Brillant Blue gefärbt. Nähere Angaben sind bei BECKER (7) zu finden.

Auswertung: Die Länge der peaks wird vom oberen Rand des Stanzloches bis zur Spitze der peaks gemessen (8). Die Länge der Standardpeaks wird gegen die Konzentration auf Millimeterpapier aufgetragen. Im Idealfall ergibt

---

+ Behringwerke AG, Marburg/Lahn

sich eine Gerade. An dieser Eichgeraden werden die Konzentrationen der den bürigen peaks zugrundeliegenden Proben abgelesen. Davon ausgehend kann die Acht-Stunden-Ausscheidung von Albumin im Urin analog 3.2 errechnet werden.



Schema 3: Elektroimmundiffusion nach LAURELL (84) (Albuminbestimmung im Urin)

+ Behringwerke AG, Marburg/Lahn

3.9 Bestimmung der Uromukoidkonzentration im Urin modifiziert nach KIRCHNER und BICHLER (77) (Elektroimmundiffusion nach LAURELL (84)

3.9.1 Vorbehandlung des Poolurins für die Standardisierung der Uromukoidbestimmung

Zur Erstellung einer Standardkurve für die quantitative Uromukoidbestimmung wurde ein Poolurin aus den Sammelurinen der Ratten der ersten Serie (N 51 - N 70, erste Sammelperiode) hergestellt. Für die Anfertigung der Konzentrationsstufe 2:1 wurde ein Teil des Poolurins mittels "Kollodiumhülsen-Ultrafiltration"+ auf die Hälfte des Ausgangsvolumens eingeengt. Die restlichen Standardkonzentrationsstufen (1:1, 1:2, 1:4) wurden durch Verdünnung mit aqua dest. hergestellt.

3.9.1.1 Funktionsweise der "Kollodiumhülsen-Ultrafiltration"

Die Urinkonzentrierung durch Ultrafiltration beruht auf dem Entzug von Wasser und anderen niedermolekularen Substanzen++ aus der Urinprobe mittels Unterdruck (Vakuumpumpe) in einer Saugflasche.

Nach Einengung auf ca. 75 % des gewünschten Endvolumens, das einen Milliliter nicht unterschreiten sollte, wird der konzentrierte Urin aus der Kollodiumhülse in einen skalierten Standzylinder gefüllt. Die Hülse wird mit dem Volumen aqua dest. nachgespült, das zur Herstellung des gewünschten Endvolumens ("Kollodiumhülsenkonzentrat") erforderlich ist.

\+ Kollodiumhülsen "SM 13200"
Sartorius Membranfilter GmbH, Göttingen

++ Abscheidungsgrad laut Hersteller: MG 12 400

3.9.2 Elektroimmundiffusion nach LAURELL (84, 124)

Puffer: 53,52 g Barbital-Natrium plus 35,32 g Natriumazetat plus 72 ml 1 n Salzsäure werden mit aqua dest. auf 6 l aufgefüllt und gelöst.

Agarosegel: 1,5 g Agarose+ auf 50 ml Puffer plus 50 ml aqua dest. werden durch Erhitzen gelöst. Je 19 ml werden in verschließbare Standzylinder gefüllt und im Wasserbad bei 52 °C deponiert. Nach der Abkühlung auf diese Temperaturwerden in jedes Gefäß 285 µl Antiratten-uromukoidserum++ zur Agaroselösung pipettiert.

Glasplatten: siehe 3.8.2 und Schema 4

Die Uromukoid-Standard-Verdünnungsreihe mit den Konzentrationen 2:1, 1:1, 1:2 und 1:4 wird aus dem Poolurin hergestellt (siehe 3.9.1). Diese vier Konzentrationsstufen werden in die ausgestanzten Auftragstellen (6 µl pro Loch) eingefüllt. Die übrigen Stanzlöcher werden für die Urinproben verwendet. Die Urinproben werden je nach zu erwartender Uromukoidkonzentration 1:20 (bei den Mangeltieren) bzw. 1:50 (bei den übrigen Tieren) verdünnt eingefüllt. Lediglich bei Jungtieren braucht der Urin nur 1:2 verdünnt zu werden.

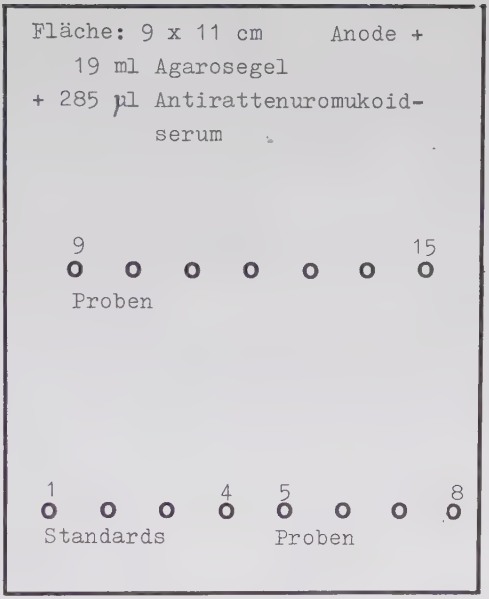
Elektrophorese und Färbung: siehe 3.8.2

Auswertung: Die Länge der peaks wird vom oberen Rand des Stanzloches bis zur Spitze der peaks gemessen. Die Länge der Standardpeaks wird gegen die Konzentration auf Millimeterpapier aufgetragen. Dabei wird der

---

+ Behringwerke AG, Marburg/Lahn

++ Das Antirattenuromukoidserum (vom Kaninchen) wurde freundlicherweise von Herrn Prof.Dr.Ch.Kirchner, Fachbereich Biologie der Universität Marburg/Lahn zur Verfügung gestellt.



Schema 4: Elektroimmundiffusion nach LAURELL (84)
(Uromukoidbestimmung im Urin)

Konzentrationsstufe 1:1 des Poolurins willkürlich die Größe " eine Normaleinheit" (NE) / dl zugeordnet. Die Punkte liegen im Idealfall auf einer Geraden. An dieser Eichgeraden werden die Konzentrationen der den übrigen peaks zugrundeliegenden Proben abgelesen. Zu beachten ist die jeweilige Verdünnung der Urinproben, um die Nativkonzentration zu errechnen.
Die Acht-Stunden-Ausscheidung ergibt sich analog 3.2.

3.10 Radioimmunoassay für $ß_2$-Mikroglobulin

Der Radioimmunoassay (RIA) wurde mit dem Phadebas^R $ß_2$-Micro Test$^+$ durchgeführt. Zunächst werden die Urinproben, die zuvor 1:2 mit dem in der Gebrauchsanweisung angegebenen Puffer verdünnt wurden, mit einer bestimmten Menge $ß_2$-Mikroglobulin-^{125}Jod-Lösung und den an Sephadexpartikel gekoppelten Anti-$ß_2$-Mikroglobulin-Antikörpern gemischt und für drei Stunden unter Schütteln bei Raumtemperatur inkubiert.
Danach werden mittels Zentrifugation gebundenes und freies $ß_2$-Mikroglobulin getrennt, der Bodensatz enthält die mit radioaktiv markiertem $ß_2$-Mikroglobulin gekoppelten Sephadexpartikel. Die von ihnen gebundene Radioaktivität wird gemessen. Sie variiert invers mit der Menge an unmarkiertem $ß_2$-Mikroglobulin, die in den Test- bzw. Eichproben enthalten ist.

Die Konzentrationsstufen für die Eichkurve werden durch Verdünnen der $ß_2$- Mikroglobulin-Standardlösung hergestellt. Eine ausführliche Beschreibung der Methode ist in der Arbeitsanleitung der Herstellerfirma angegeben.
Aus den mit dieser Methode erhaltenen Urinkonzentrationen können analog 3.2 die Acht-Stunden-Ausscheidungen für $ß_2$-Mikroglobulin berechnet werden.

3.11 Untersuchung des Urinsediments

Die Untersuchung des Urinsediments wurde unter den in der Klinik üblichen Bedingungen (400fache Vergrößerung, Betrachtung von ca. 10 Gesichtsfeldern) vorgenommen (2,4).

+ Pharmacia Diagnostics AB, Uppsala/Schweden

3.12 Harnsteinanalyse

Zur Untersuchung der Zusammensetzung von Harnkonkrementen wurde die polarisationsmikroskopische Methode verwendet. Damit sind auch anteilmäßig kleine Bestandteile des Konkrements erfaßbar, außerdem kommt man mit einer geringen Probenmenge aus (81).

3.13 Vitamin A-Bestimmung

In Versuchsserie zwei wurde zu Ende des Versuchs bei den 15 überlebenden Tieren des Mangelkollektivs sowie je drei Tieren des Pair-fed- bzw. Normalkollektivs bei der Sektion (siehe 3.15) die Leber entnommen.

Anschließend wurden die Lebern der Ratten mittels methanolischer Kalilauge heiß verseift. Von einem aliquoten Teil jeder Leber wurde der Vitamin A-Alkohol (Retinol) extrahiert. Die im Extrakt vorhandene Konzentration des Vitamins wurde mit Hilfe einer high performance liquid chromatography (HPLC)-Methode unter Verwendung eines fluorimetrischen Detektors gemessen und daraus der Gesamtgehalt der Leber an Vitamin A errechnet (113).

3.14 Röntgenaufnahmen

Zur Erkennung eventuell vorhandener Konkremente in den Nieren und ableitenden Harnwegen wurden die Tiere, die am Ende des Versuchs seziert wurden, zuvor unter Äthernarkose geröntgt. Für diese Abdomenübersichtsaufnahmen wurden Filme mit dem Format 8 x 4 cm benutzt. Die Ausgangsspannung betrug 200 Volt, die Röhrenspannung 52 kV, die Belichtungszeit 0,16 sec.

3.15 Sektion und pathohistologische Untersuchung

Zum Abschluß der zweiten Versuchsserie wurden die 15 überlebenden Vitamin A-Mangelratten sowie je drei Tiere des Pair-fed- bzw. Normalkollektivs seziert. Nach Entnahme der Leber zur Vitamin A-Bestimmung (siehe 3.13) wurde der Retroperitonealsitus präparatorisch dargestellt und photographiert. Anschließend wurden Nieren und Harnblase für die histologische Untersuchung entnommen. Die Nieren wurden mit einem "Brötchenschnitt" aufgeklappt und die Nierenbecken mit der Lupe auf Konkremente hin untersucht.

Die entnommenen Gewebeproben wurden in 4 %iger gepufferter Formalinlösung fixiert (histologische Untersuchung) bzw. in flüssigem Stickstoff mit Isopentan als Intermedium tiefgefroren (Immunfluoreszenzhistologie).

Für die histologische Untersuchung wurden Schnitte auf konventionelle Weise hergestellt. Die Färbung erfolgte nach folgenden Methoden: Hämatoxylin-Eosin (HE), Kossa und period acid Schiff-reaction (PAS).

Um vorhandene Kalkablagerungen in der Niere in etwa quantitativ erfassen zu können, wurden in einem Meßfeld von 1,3 x 1,4 mm Kantenlänge die Verkalkungen ausgezählt. Das Meßfeld wurde mit einer Schmalseite zur Nierenkapsel hin, mit der anderen zur Mark-Rindengrenze hin angelegt. Die Verkalkungen und Mikrolithen wurden unabhängig von ihrer Größe ausgezählt.

3.16 Immunfluoreszenzhistologie zur Lokalisation des Uromukoid nach BICHLER und KIRCHNER (12)

Die Lokalisation des Uromukoid in der Rattenniere wurde mittels Immunfluoreszenzhistologie mit Antiratten-

uromukoidserum und Fluoreszeinisothiozyanat (FITC)-konjugiertem Antikaninchen-IgG-Serum von der Ziege[+] durchgeführt (sog. Sandwichtechnik).
Untersucht wurden die Nieren von 12 Vitamin A-Mangeltieren sowie je zwei Ratten der beiden anderen Gruppen.

Die tiefgefrorenen Gewebeproben werden in Ames OCT Compound[++] eingebettet und mit einem Kryostatmikrotom bei - 23 °C geschnitten (Schnittdicke 10 µm). Anschließend werden die Schnitte auf Objektträger aufgeschmolzen und bis zur Weiterbehandlung in 95 %igem Alkohol asserviert.

Dann werden sie in einer absteigenden Alkoholreihe (100 %, 80 %, 60 %, 40 %) und abschließend in phosphatgepufferter Lösung (PBS) gewaschen, so daß sich das Einbettungsmaterial von den Schnitten löst. Nun gibt man die Schnitte in eine feuchte Kammer, betropft sie mit Antirattenuromukoidserum und läßt sie 30 - 60 Minuten inkubieren. Der Vorgang wird mit FITC-konjugiertem Antikaninchen-IgG-Serum wiederholt. Zum Auswaschen der sog. Hintergrundstrahlung legt man die Schnitte für 30 Minuten in PBS und untersucht sie anschließend unter dem Mikroskop.

3.17 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Ergebnisse erfolgte mit dem U - Test (WILCOXON, MANN, WHITNEY) für unabhängige Stichproben (104), da man nicht bei allen Parametern von einer Normalverteilung ausgehen konnte. Unterschiede wurden dann als signifikant bezeichnet, wenn die Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner oder gleich 5 % ($a \leq 0{,}05$) war.

+ Behringwerke AG, Marburg/Lahn
++ Ames Company, Elkhart/Indiana, USA

4 ERGEBNISSE

4.1 Acht-Stunden-Volumina

Bei der zweiten Versuchsserie wurden die Acht-Stunden-Urin-Volumina gemessen. In den Tab. 10 bis 15 sind die einzelnen Werte aufgeführt.

In Sammelperiode 1 zeigte das Pair-fed-Kollektiv signifikant erniedrigte Acht-Stunden-Ausscheidungen, in Sammelperiode 2 waren die Acht-Stunden-Werte des Mangelkollektivs signifikant geringer als die der beiden anderen Gruppen (Tab. 18 und 19).

Abb. 2 zeigt Mittelwerte und Standardabweichungen der Acht-Stunden-Volumina in Form eines Balkendiagramms.

4.2 Urin-pH-Wert

Die mit der Einstabglaselektrode gemessenen pH-Werte der einzelnen Urine sind in den Tab. 2 bis 15 dargestellt. Zwischen den einzelnen Kollektiven ergab sich kein signifikanter Unterschied.

4.3 Kalzium im Urin

Die Tab. 2 bis 9 zeigen die Kalziumkonzentration im Urin der einzelnen Ratten, in den Tab. 10 bis 15 ist die Kalziumausscheidung im Acht-Stunden-Urin aufgeführt.

Zwischen der Acht-Stunden-Ausscheidung der Mangeltiere einerseits und der Pair-fed- bzw. Normaltiere andererseits besteht ein signifikanter Unterschied (Tab. 18, 19): Die Mangeltiere scheiden im Acht-Stunden-Urin mehr Kalzium aus. Gleiches gilt für die Kalziumkonzentration im Urin.

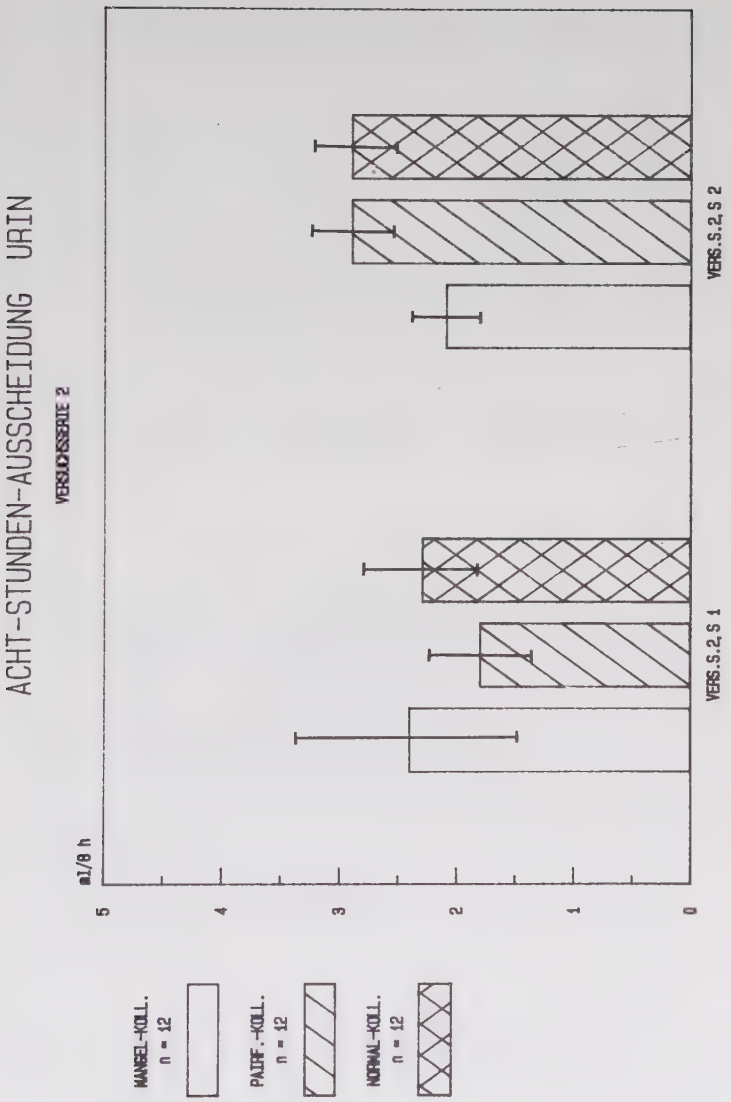


Abb. 2: Mittelwerte und Standardabweichungen der Acht-Stunden-Urinausscheidung von Vitamin A-Mangel-, Pair-fed- und Normalratten

Die Mittelwerte und Standardabweichungen der Kalziumkonzentrationen bzw. Acht-Stunden-Ausscheidungen sind in den Abb. 3 und 4 dargestellt.

4.4 Magnesium im Urin

In den Tab. 2 bis 9 ist die Urinkonzentration, in den Tab. 10 bis 15 die Acht-Stunden-Ausscheidung von Magnesium der einzelnen Tiere ausgedruckt.

Wie aus den Tab. 16 bis 19 zu entnehmen ist, ergeben sich wechselnd signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Kollektiven, die keine klare Tendenz erkennen lassen.

4.5 Phosphor im Urin

Die Tab. 2 bis 9 bzw. 10 bis 15 geben die Urinkonzentrationen bzw. Acht-Stunden-Ausscheidungen für Phosphor wieder.

Die statistische Auswertung ergab, daß die Mangelgruppe in Sammelperiode 1 im Vergleich zum Normalkollektiv signifikant weniger Phosphor ausschied, in Sammelperiode 2 bestand dieser Unterschied zusätzlich gegenüber der Pair-fed-Gruppe (Tab. 18 und 19). Ebenso war in dieser Sammelperiode die Phosphorkonzentration der Mangeltiere signifikant geringer als die der anderen Kollektive (Tab. 17).

Die Mittelwerte und Standardabweichungen für Phosphor im Urin zeigen die Abb. 5 und 6 in Form von Balkendiagrammen.

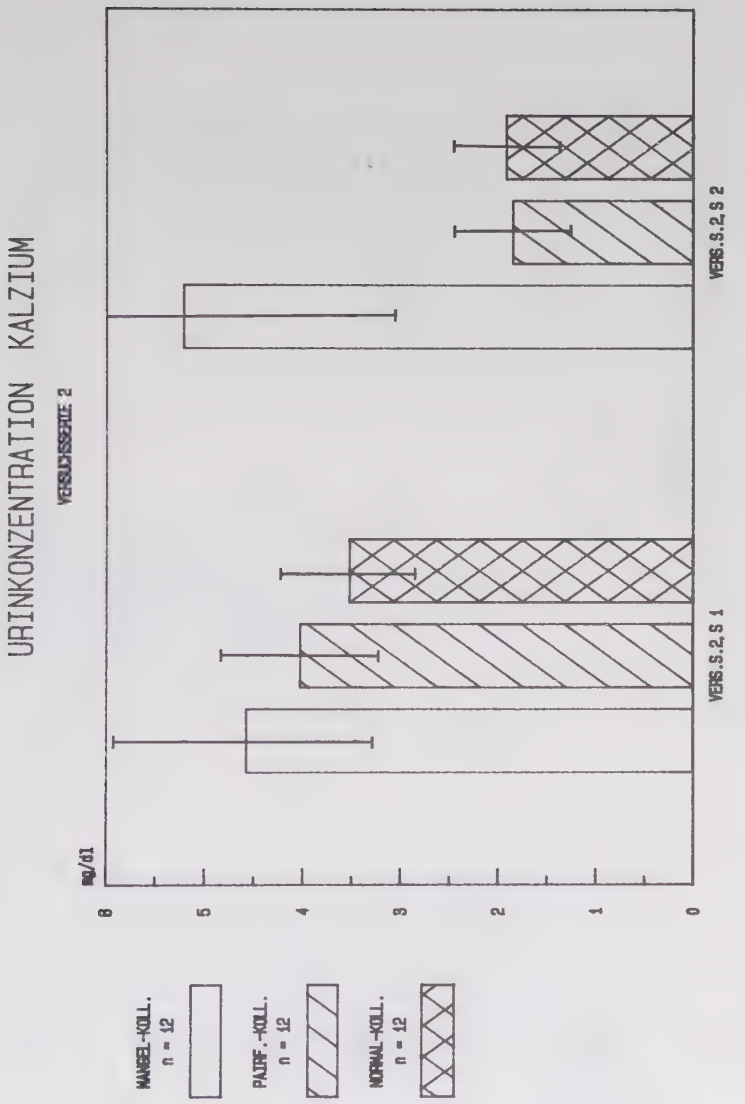


Abb. 3: Mittelwerte und Standardabweichungen der Kalziumkonzentration im Urin von Vitamin A-Mangel-, Pair-fed- und Normalratten

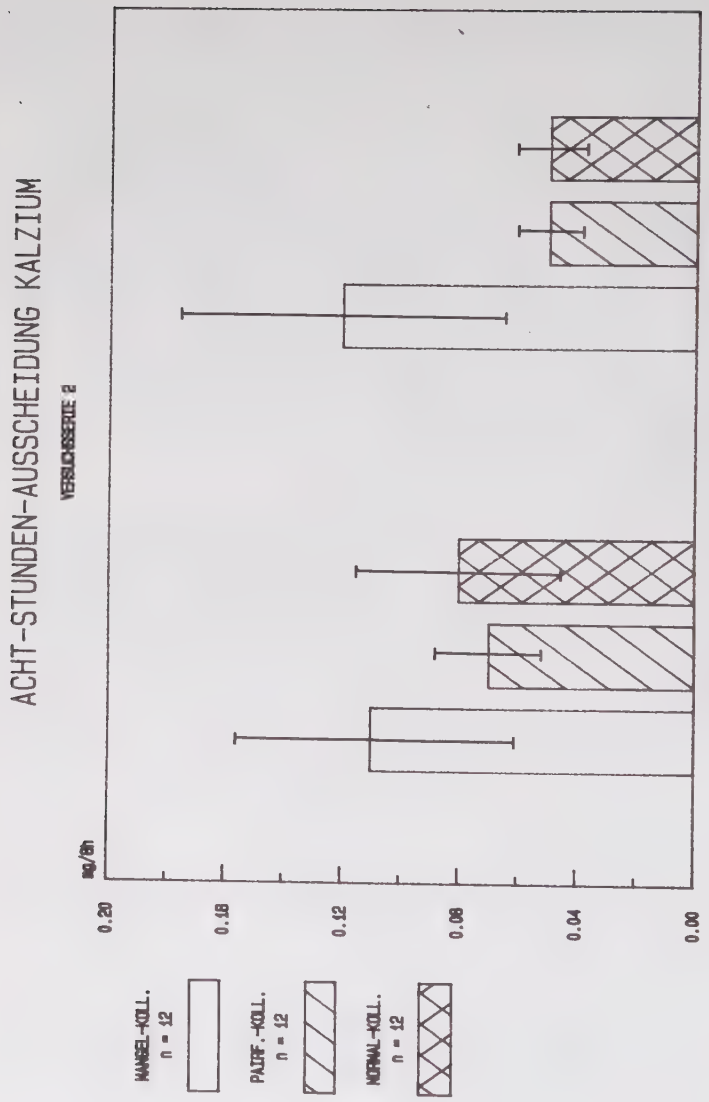


Abb. 4: Mittelwerte und Standardabweichungen der Kalziumausscheidung im Urin von Vitamin A-Mangel-, Pair-fed- und Normalratten

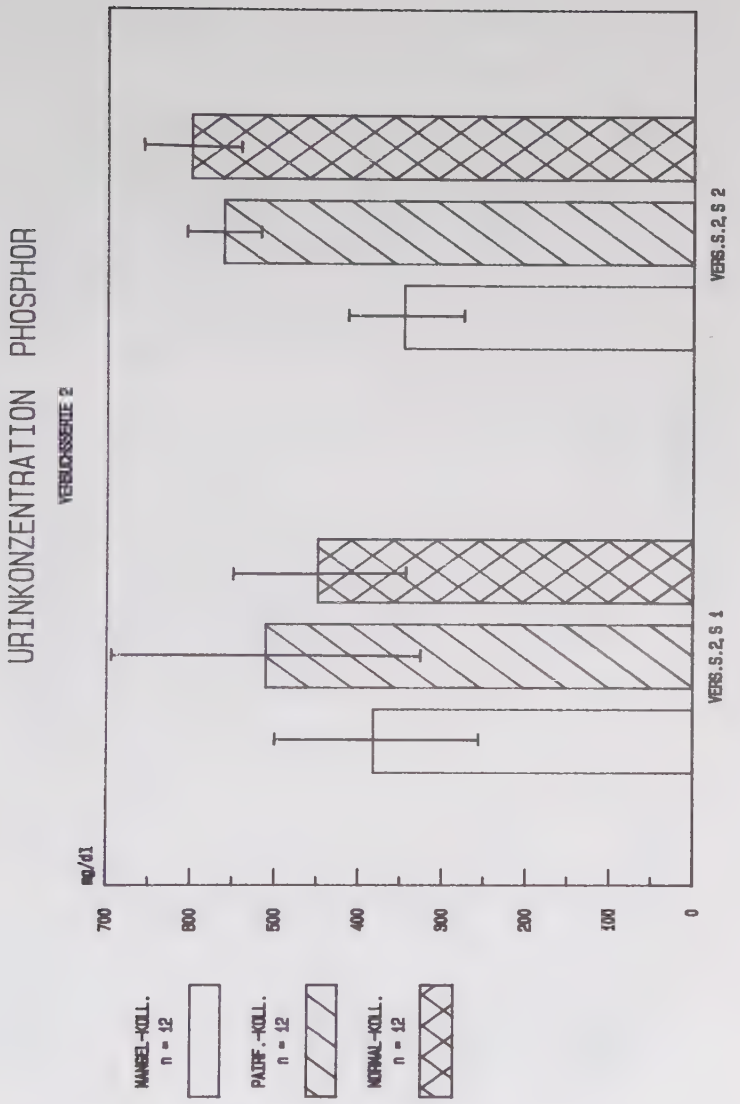


Abb. 5: Mittelwerte und Standardabweichungen der Phosphorkonzentration im Urin von Vitamin A-Mangel-, Pair-fed- und Normalratten

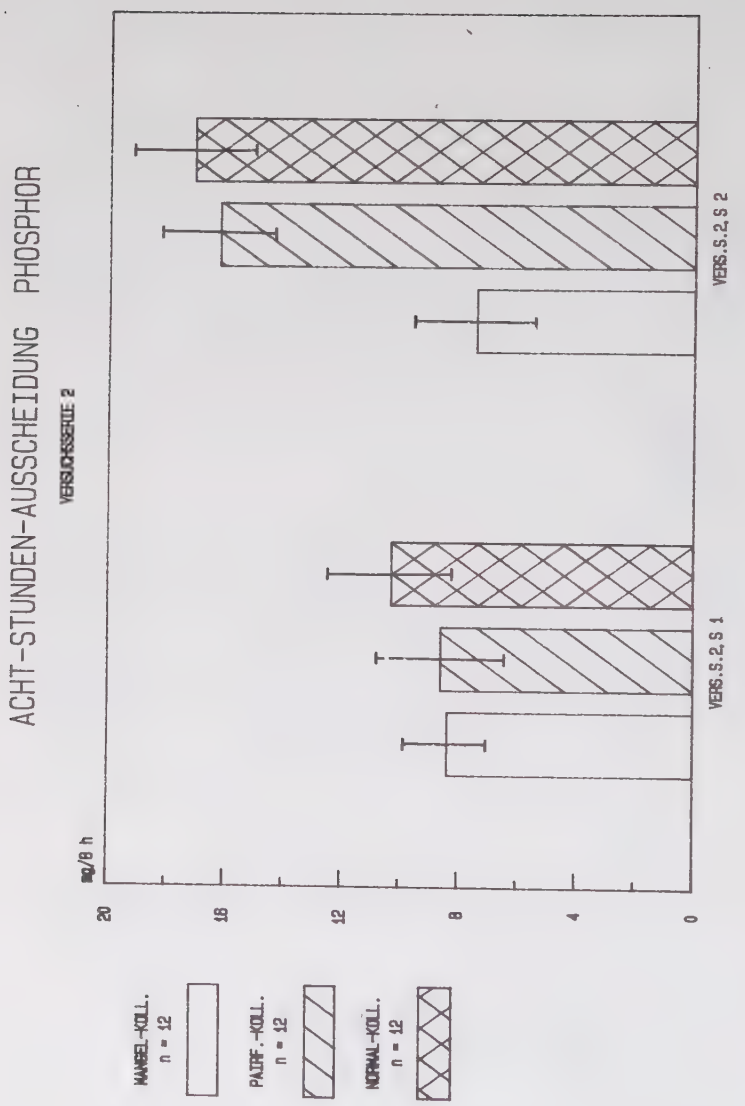


Abb. 6: Mittelwerte und Standardabweichungen der Phosphorausscheidung im Urin von Vitamin A-Mangel-, Pair-fed- und Normalratten

4.6 Harnsäure im Urin

Die Harnsäurekonzentration und Acht-Stunden-Ausscheidung sind in den Tab. 2 bis 9 bzw. 10 bis 15 dargestellt. Die Kollektive unterscheiden sich nicht signifikant. Es fällt jedoch auf, daß die Werte in Sammelperiode 2 bei allen Kollektiven wesentlich höher lagen als in Sammelperiode 1 der zweiten Serie.

4.7 Zitrat im Urin

Die Zitratkonzentration bzw. Acht-Stunden-Ausscheidung im Urin zeigen die Tab. 2 bis 15. Mit fortschreitender Versuchsdauer lagen die Zitratwerte im Urin der Mangel- und Pair-fed-Tiere signifikant niedriger als bei den Normalratten (Tab. 16 bis 19).

Die Mittelwerte und Standardabweichungen für Zitrat im Urin sind in Abb. 7 und 8 graphisch dargestellt.

4.8 AMPS im Urin

Die AMPS-Konzentrationen bzw. Acht-Stunden-Ausscheidungen im Urin zeigen die Tab. 2 bis 15.

Die statistische Auswertung ergab folgendes Bild: In Sammelperiode 1 der zweiten Serie weisen Mangel- und Pair-fed-Tiere signifikant geringere Werte als das Normalkollektiv auf. In Sammelperiode 2 scheidet das Mangelkollektiv signifikant weniger AMPS aus als die beiden anderen Gruppen (Tab. 16 bis 19, Abb. 9 und 10).

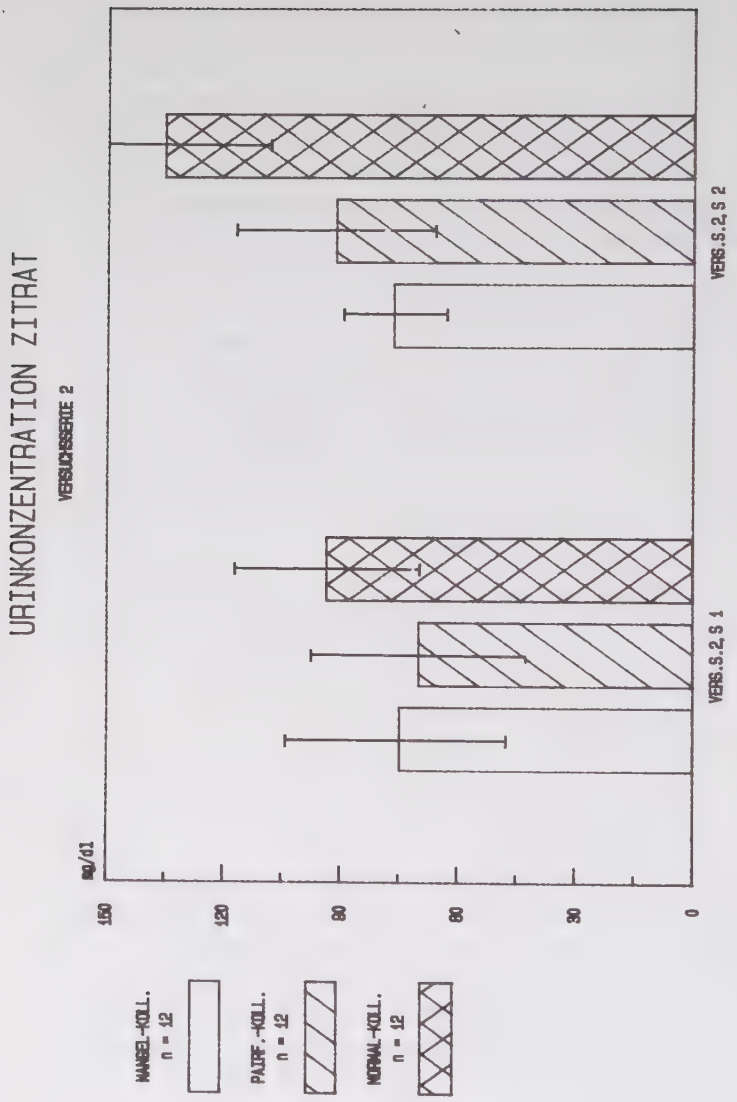


Abb. 7: Mittelwerte und Standardabweichungen der Zitratkonzentration im Urin von Vitamin A-Mangel-, Pair-fed- und Normalratten

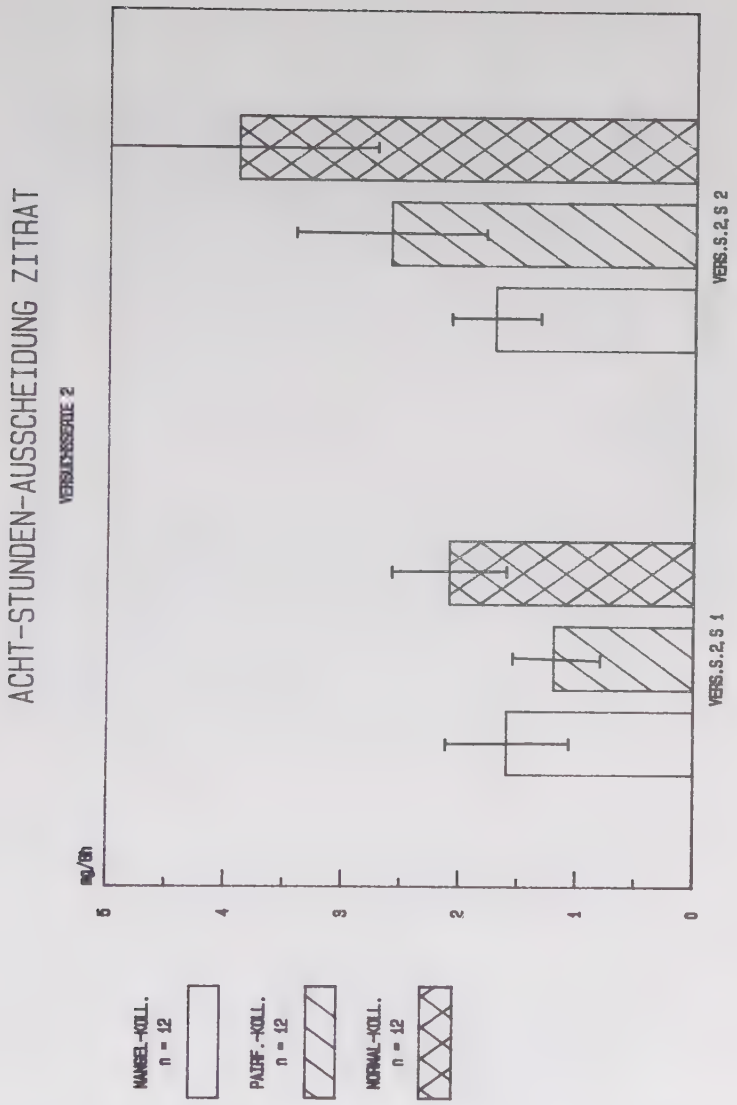


Abb. 8: Mittelwerte und Standardabweichungen der Zitratausscheidung im Urin von Vitamin A-Mangel-, Pair-fed- und Normalratten

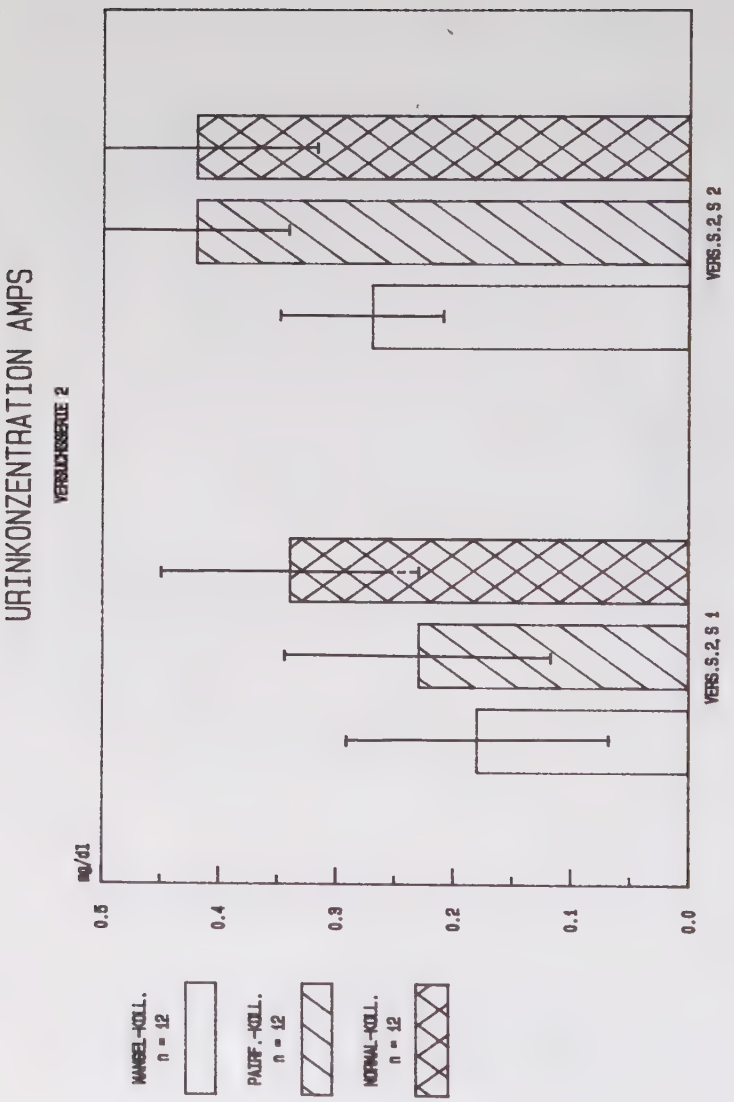


Abb. 9: Mittelwerte und Standardabweichungen der AMPS-Konzentration im Urin von Vitamin A-Mangel-, Pair-fed- und Normalratten

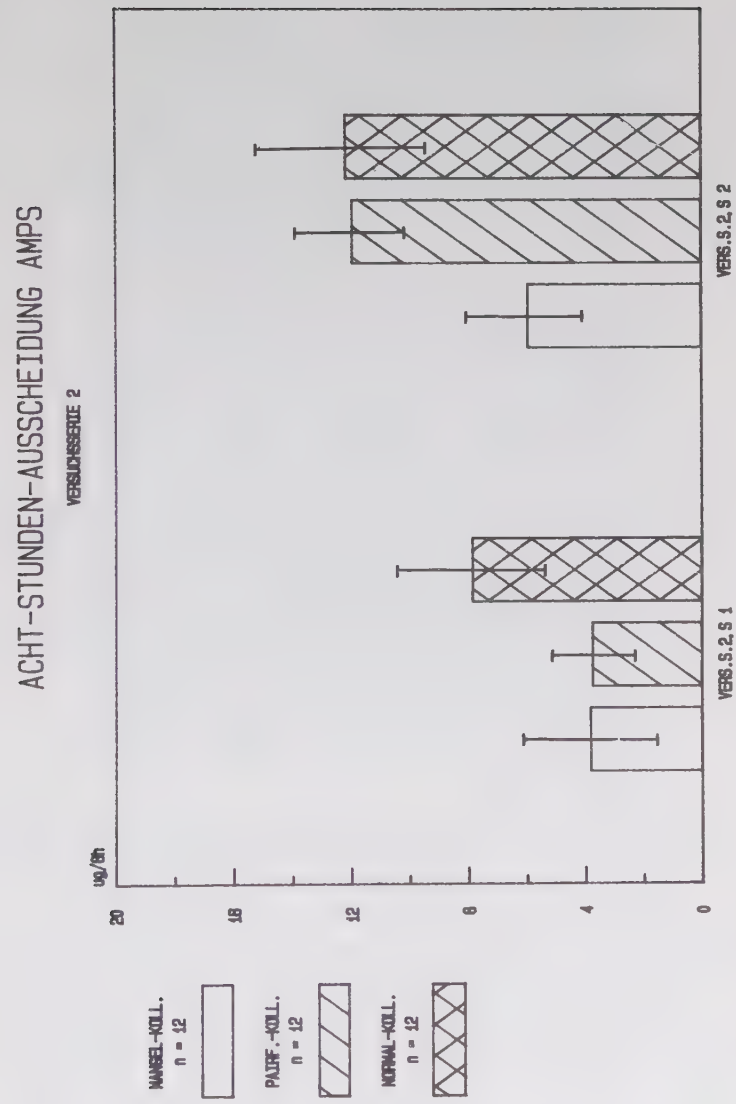


Abb. 10: Mittelwerte und Standardabweichungen der AMPS-Ausscheidung im Urin von Vitamin A-Mangel-, Pair-fed- und Normalratten

4.9 Gesamteiweiß im Urin

In den Tab. 2 bis 15 sind die Gesamteiweißkonzentrationen und Acht-Stunden-Ausscheidungen der einzelnen Versuchstiere aufgeführt. Ein Pair-fed-Tier (2.56) zeigte eine Gesamteiweißkonzentration von 100 mg/dl, die jedoch durch Blut im Urin (nachgewiesen durch Combistix^{R}-Teststreifen^{+}) verfälscht war.

4.10 Albumin

4.10.1 Kreuzreaktion zwischen Human- und Rattenalbumin

Die Tandem-Immunelektrophorese zeigte eine Partialantigengemeinschaft zwischen Human- und Rattenalbumin (Abb.11), die nach BOCK und AXELSEN (21) einer etwas entfernteren Verwandtschaft entspricht. Auf Grund dieser Partialantigengemeinschaft wurde die Elektroimmundiffusion mit Antiserum gegen Humanalbumin zur quantitativen Albuminbestimmung im Rattenurin eingesetzt.

4.10.2 Albumin im Urin

Abb. 12 zeigt eine Elektroimmundiffusion nach LAURELL (84) für Albumin.
Die Tab. 2 bis 15 zeigen die Einzelwerte der Albuminkonzentration bzw. Acht-Stunden-Ausscheidung im Urin. Ein Tier der Pair-fed-Gruppe (2.56) wies eine Albuminkonzentration von 257,5 mg/dl auf. Dieser Wert war durch eine Makrohämaturie (siehe 4.9) verfälscht. In Sammelperiode 2 der gleichen Serie hatten ein Tier der Mangelgruppe und zwei Tiere des Normalkollektivs Werte über 50 mg/dl. Alle diese Ausreißerwerte (r_m-Test nach GRUBBS (5)) wurden bei der statistischen Auswertung

---

+ Boehringer Mannheim GmbH, Mannheim

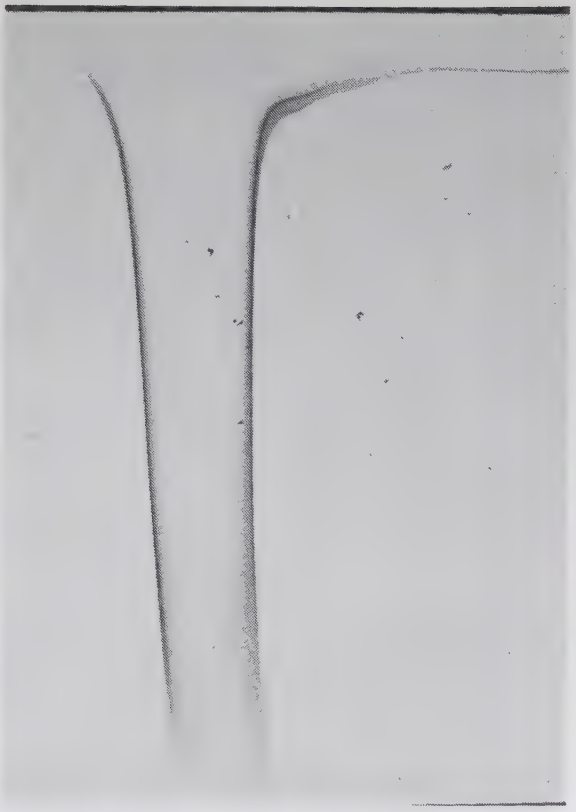


Abb. 11: Tandem-Immunelektrophorese nach KRØLL (82) (Kreuzreaktion zwischen Human- und Rattenalbumin, die nach BOCK und AXELSEN (21) einer entfernteren Verwandtschaft entspricht.

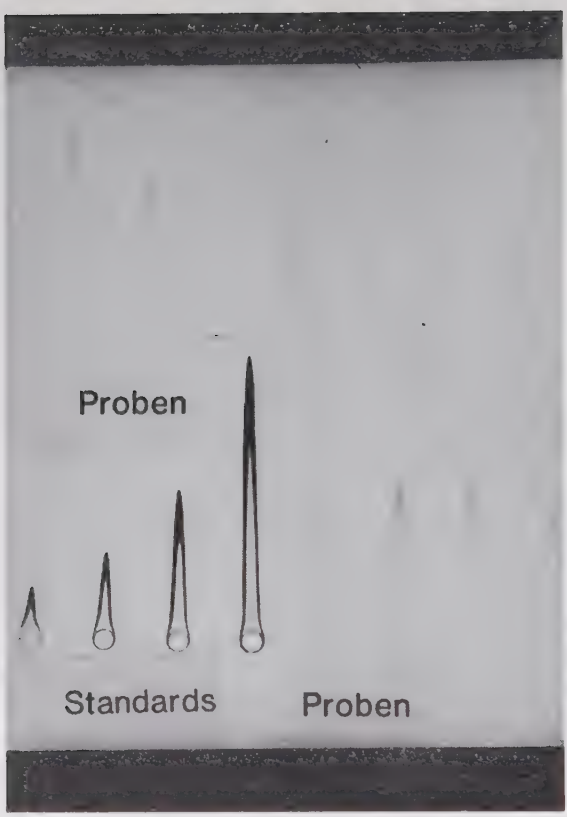


Abb. 12: Elektroimmundiffusion nach LAURELL (84)
(Albuminbestimmung im Urin)
Die ersten vier peaks (untere Reihe von links) entsprechen den Standards, die restlichen entsprechen Urinproben

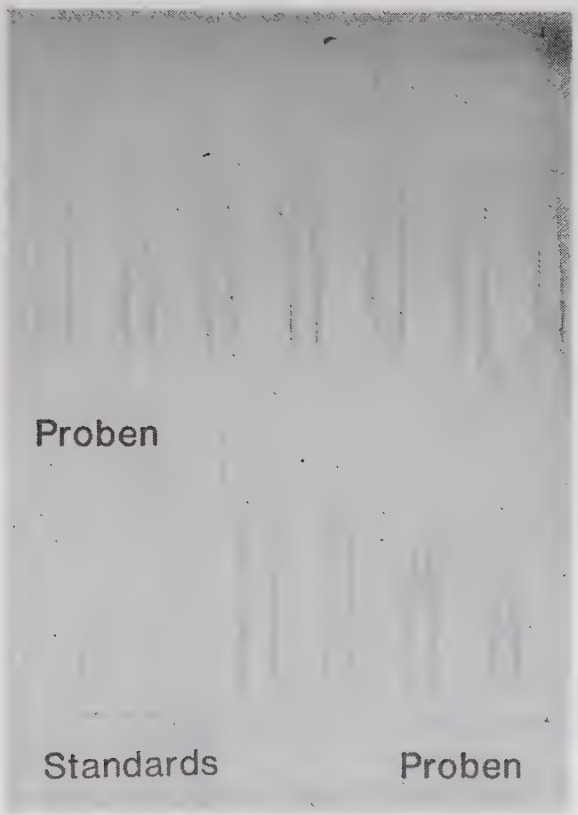


Abb. 13: Elektroimmundiffusion nach LAURELL (84)
(Uromukoidbestimmung modifiziert nach KIRCHNER und BICHLER (77))
Die ersten vier peaks entsprechen den Standards (untere Reihe von links), die restlichen entsprechen Urinproben.

nicht berücksichtigt.
In den Tab. 16 bis 19 sind die korrigierten Mittelwerte und Signifikanzen aufgezeigt. Die Werte unterscheiden sich nicht signifikant, lediglich das Pair-fed-Kollektiv in Sammelperiode 1 schied im Acht-Stunden-Urin signifikant weniger Albumin aus als die Normalgruppe, jedoch läßt sich dies durch die geringeren Acht-Stunden-Volumina dieses Kollektivs (siehe 4.1) erklären.

4.11 Uromukoid im Urin

Abb. 13 zeigt eine Elektroimmundiffusion nach LAURELL (84) für Uromukoid.
Die Einzelwerte der Uromukoidkonzentration bzw. Acht-Stunden-Ausscheidung im Urin sind den Tab. 2 bis 15 zu entnehmen.

Die statistische Auswertung ergab, daß sowohl die Urinkonzentration als auch die Acht-Stunden-Ausscheidung für Uromukoid bei den Mangeltieren aller Sammelperioden signifikant geringer sind als die der anderen Kollektive. Die Acht-Stunden-Ausscheidung des Pair-fed-Kollektivs in Sammelperiode 1 ist ebenso geringer als die der entsprechenden Mangelgruppe, was auf die geringeren Urinvolumina dieser Tiere zurückzuführen ist (siehe 4.1).

Die Mittelwerte und Standardabweichungen für Uromukoid im Urin zeigen die Abb. 14 und 15. In Abb. 16 sind die gleichen Werte für die Normalkollektive aller Sammelperioden (Serie 1 und 2) gesondert gezeichnet. Hierbei fällt auf, daß junge Ratten (7 bis 10 Wochen alt) wesentlich niedrigere Werte als erwachsene Tiere aufweisen.

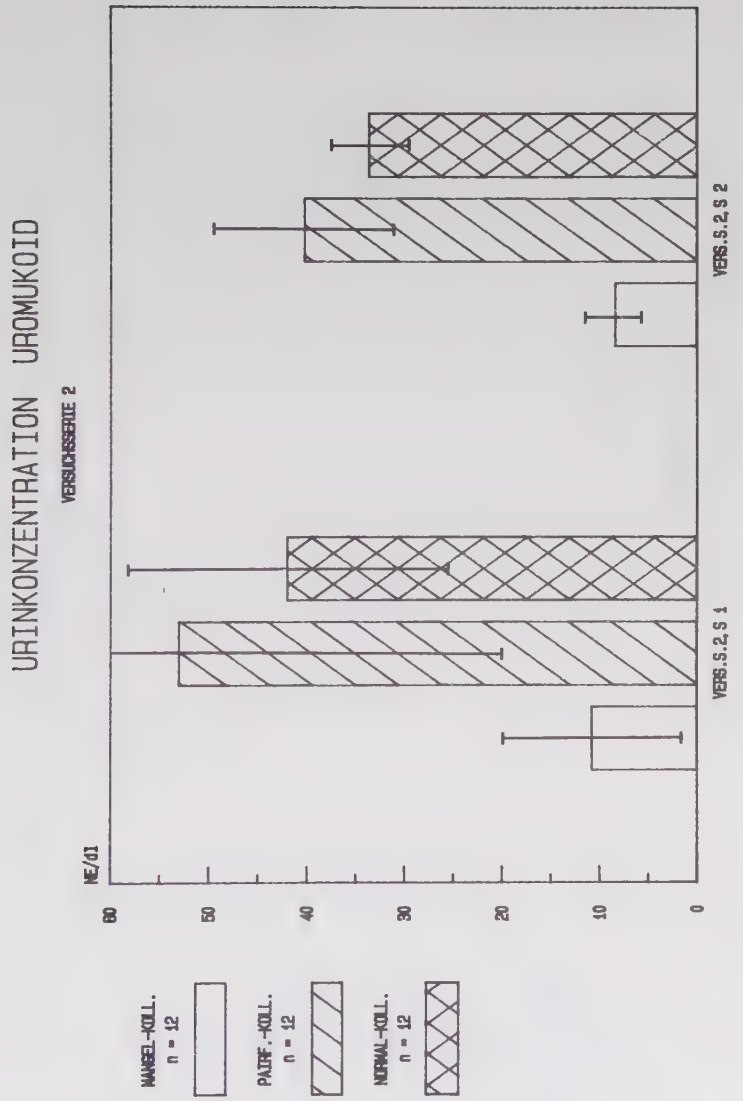


Abb. 14: Mittelwerte und Standardabweichungen der Uromukoidkonzentration im Urin von Vitamin A-Mangel-, Pair-fed- und Normalratten

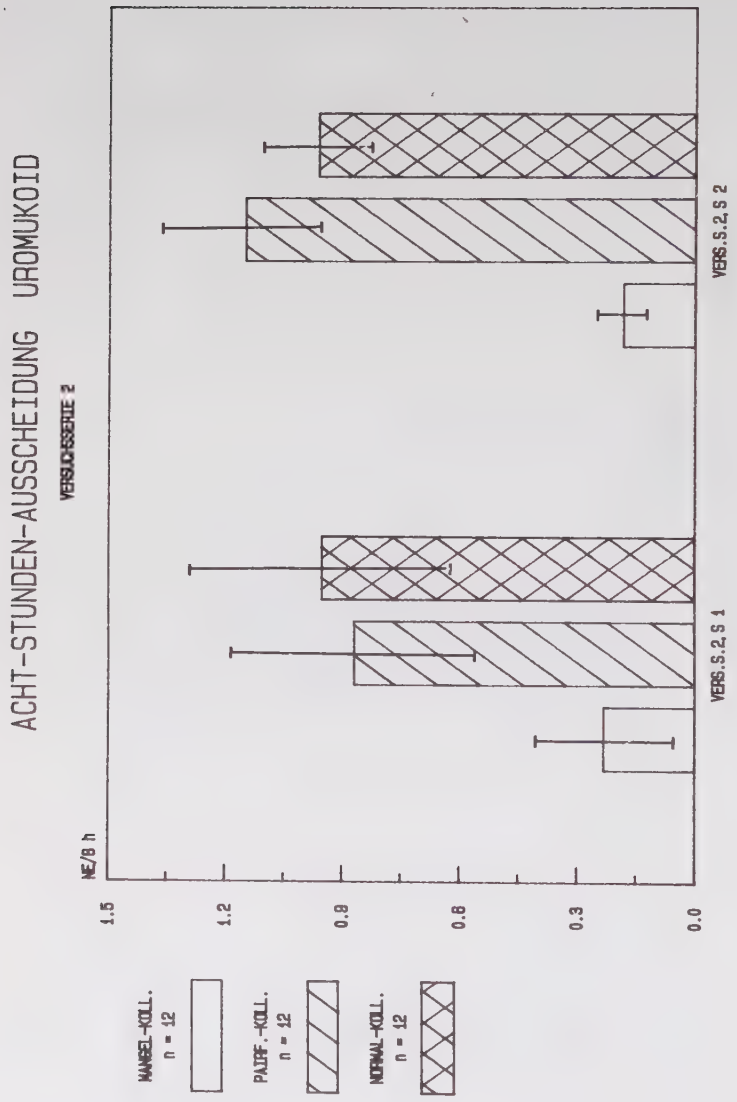


Abb. 15: Mittelwerte und Standardabweichungen der Uromukoidausscheidung im Urin von Vitamin A-Mangel-, Pair-fed- und Normalratten

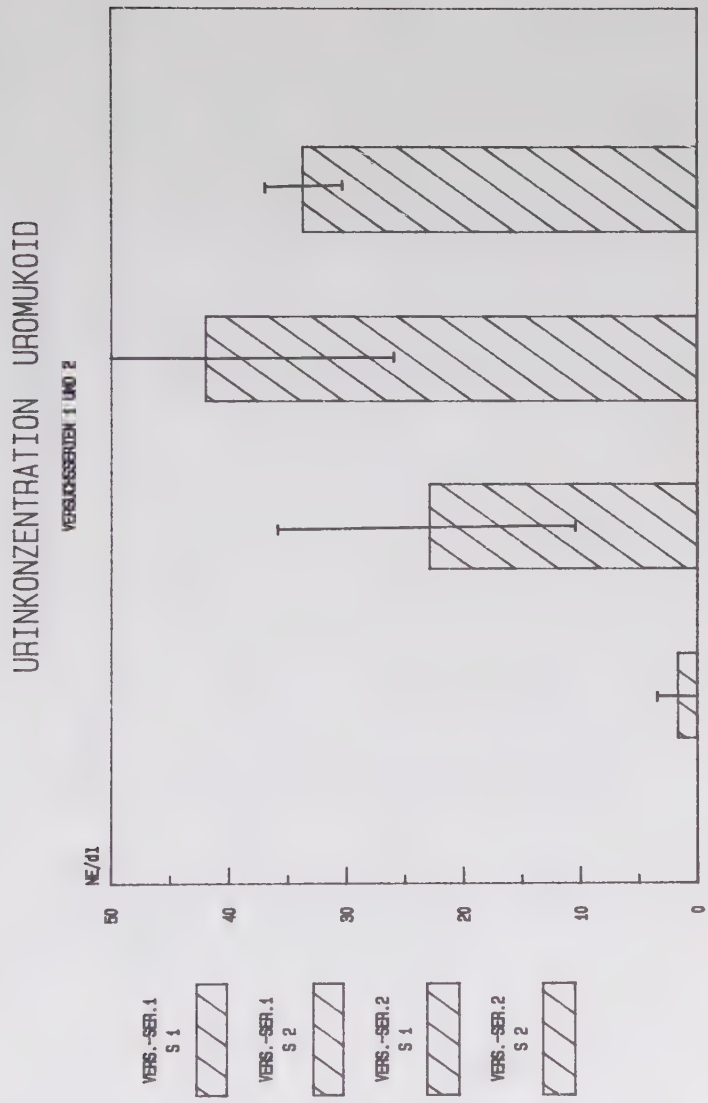


Abb. 16: Mittelwerte und Standardabweichungen der Uromukoidkonzentration im Urin von Normalratten beider Versuchsserien

4.12 $ß_2$-Mikroglobulin im Urin

Die Tab. 2 bis 15 zeigen die einzelnen Urinkonzentrationen und Acht-Stunden-Ausscheidungen von $ß_2$-Mikroglobulin. In Sammelperiode 2 der zweiten Serie befanden sich zwei Ausreißerwerte (3.83 und 3.87) (r_m-Test nach GRUBBS (5)). Diese Werte wurden bei der statistischen Auswertung nicht berücksichtigt.

In den Tab. 16 bis 19 sind die korrigierten Mittelwerte und Signifikanzen ausgedruckt. Es ergaben sich wechselnd signifikante Unterschiede, eine klare Tendenz läßt sich nicht erkennen.

4.13 Urinsediment

Die Sedimentuntersuchung ergab folgende Resultate: In beiden Sammelperioden überwogen unter den Kristallen die Kalziumoxalate bei weitem. In Sammelperiode 2 war der Anteil amorpher Urate wesentlich höher als in Sammelperiode 1. Dies korreliert gut mit der höheren Harnsäureausscheidung in dieser Sammelperiode (Tab. 7 bis 15). Fernerhin wurde bei mehreren Tieren Tyrosin gefunden.

Bakterien und höhere Leukozytenzahlen konnten in keinem Sediment festgestellt werden. Einige Tiere zeigten vereinzelt Erythrozyten und Plattenepithelien. Lediglich Tier 2.56 wies reichlich Erythrozyten auf (siehe 4.9 und 10).

4.14 Vitamin A-Bestimmung

In Versuchsserie 2 wurden die Lebern der Tiere, die am Ende des Experiments seziert wurden, auf ihren Gehalt an Vitamin A untersucht. Tab. 20 zeigt die Einzelwerte dieser Bestimmung.

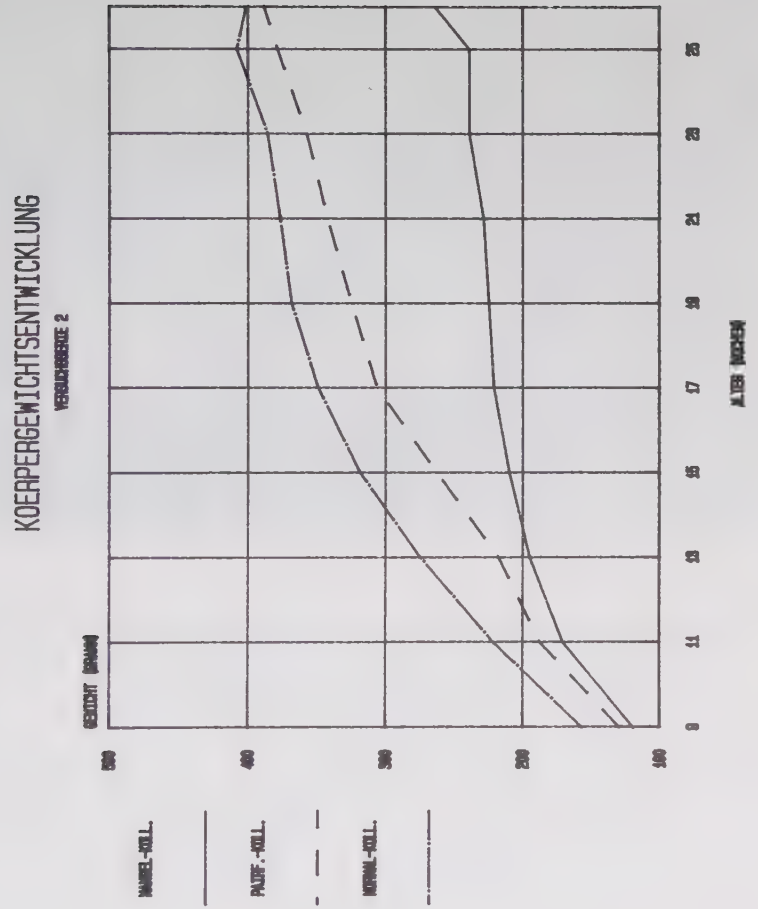


Abb. 17: Körpergewichtsentwicklung der Vitamin A-Mangel-, Pair-fed- und Normalratten in Versuchsserie 2. Aufgezeichnet sind die Mittelwerte der Kollektive in wöchentlichem Abstand.

Eine statistische Bearbeitung unterblieb angesichts des geringen Stichprobenumfangs der Normal- und Pair-fed-Gruppe. Die Tiere des Mangelkollektivs zeigen jedoch eine klare Vitamin A-Depletierung, hingegen wiesen die anderen Gruppen ausreichende Leberspeicher auf.

4.15 Körpergewichtsentwicklung

Aus Tab. 21 sind die Körpergewichtsmittelwerte der drei Kollektive der Serie 2 (in wöchentlichem Abstand) sowie die Standardabweichungen zu entnehmen.

Nach anfänglicher Parallelität zeigen die Mangeltiere mit fortschreitender Versuchsdauer eine langsamere Gewichtszunahme als die anderen Kollektive. Die Pair-fed-Tiere ihrerseits zeigen ein geringeres Wachstum als die Normalgruppe, bedingt durch die limitierte Futteraufnahme. Abb. 17 zeigt die Gewichtsentwicklung als Verlaufsdiagramm.

4.16 Sektion und pathohistologische Untersuchung

4.16.1 Sektion

Bei der Sektion am Ende der zweiten Serie fiel auf, daß die Mangeltiere kleiner als die anderen Ratten waren. Ihr Fell war struppig; im Gegensatz zu den Mangeltieren, deren Fell weiß war, zeigten die Normal- und Pair-fed-Tiere eine elfenbeinerne Färbung (Abb. 18).
Fettpolster waren bei den Mangeltieren kaum angelegt, die anderen Ratten zeigten besonders retroperitoneal ausgeprägtes Fettgewebe (Abb. 19).

Nachdem die Nierenbecken eröffnet waren, fanden sich bei zwei Mangeltieren grießförmige Konkremente, die durch Spülung der Nierenbecken asserviert und anschließend

Abb. 18: Mangelratte (1.37, rechts) im Vergleich zu einer Normalratte (3.77, links). Auffällig ist der Größenunterschied der Tiere und die hellere Färbung der Mangelratte.

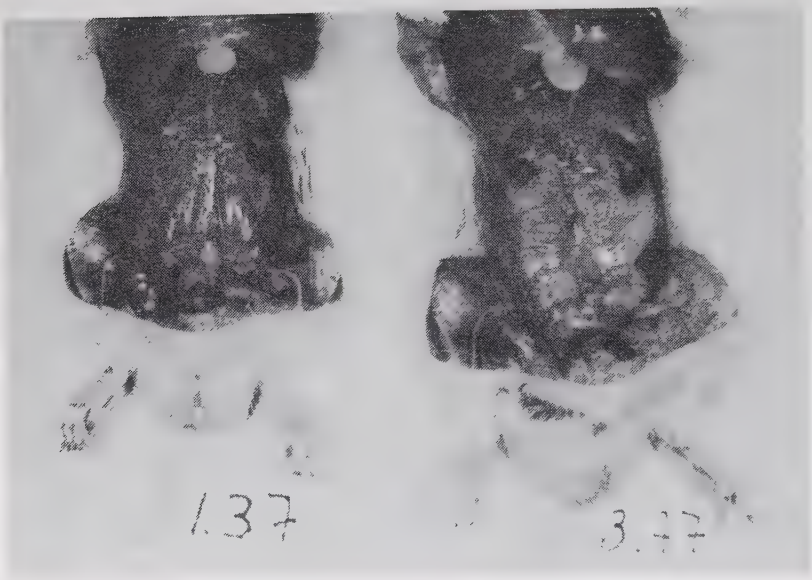


Abb. 19: Präparierter Retroperitonealsitus einer Mangelratte (1.37) im Vergleich zu dem eines Normaltiers (3.77). Die Ratte des Normalkollektivs zeigt ausgeprägten retroperitonealen Fettgewebsansatz, der bei dem Mangeltier fast völlig fehlt.

polarisationsmikroskopisch analysiert wurden. Die Nierenbecken der Mangeltiere waren porzellanartig weiß, bei den anderen Kollektiven sahen sie gelblich-weiß aus. Das Nierenmark der Mangeltiere zeigte eine weißliche, feine Streifung, die sich teilweise in die Rindenzone fortsetzte. Wie die pathohistologische Untersuchung ergab, entsprach dieser makroskopische Befund verkalkten Sammelrohren. Das Nierenmark der beiden anderen Gruppen war vorwiegend blaßrosa gefärbt.
Die Ureteren waren durchweg zart, die Harnblasen der Mangelratten jedoch meist größer und fühlten sich in einigen Fällen härter an als die der Pair-fed- und Normalratten.
Die Mangelratte 1.19 hatte in der Harnblase ein stecknadelkopfgroßes, gelbliches kugeliges Gebilde, das sich weich anfühlte. Es wurde asserviert und histologisch untersucht (siehe 4.16.2).

4.16.2 Pathohistologische Untersuchung

Bei allen untersuchten Nieren fehlten entzündliche Veränderungen. Im Mark sowie an der Mark-Rindengrenze sah man Kalkablagerungen in den Tubuli, teils in Form kleiner Körnchen, teils als Mikrolithen abgelagert. Die Ergebnisse der ausgezählten Kalkablagerungen zeigt Tab. 22. Das Mangelkollektiv zeigt in einigen Fällen eine gewisse Erhöhung der Mikrolithenzahl, ein klarer Unterschied gegenüber den anderen Kollektiven besteht jedoch nicht.

Die Harnblase des Tiers 1.19 wies Eiweißpräzipitate auf, die kleinste Kalkkonkremente enthielten. Die Harnblase von 1.32 enthielt in der Wand einen ca. 4 mm großen Kalkherd, entzündliche Veränderungen fehlten. In der Lichtung der Blase des Tiers 2.53 fand sich eine Proteinkugel, die von einer dünnen Kalkschale umgeben war. In einem zweiten Schnitt war die Lichtung ausgeweitet und

mit Eiweißmassen ausgefüllt.
Die Harnblasen der übrigen Ratten zeigten keinerlei krankhafte Veränderungen.

4.17 Röntgenaufnahmen

Auf den Abdomenübersichtsaufnahmen waren bei keinem der 21 untersuchten Ratten kalkdichte Verschattungen zu erkennen, auch sonst ergaben sich keine Unterschiede zwischen den einzelnen Kollektiven.

4.18 Immunfluoreszenzhistologie

Die Untersuchung der Nierenschnitte mit immunfluoreszenzmikroskopischen Methoden ergabe folgende Resultate:
Die Zellen der distalen Tubuli und der Sammelrohre zeigten deutliche Fluoreszenz, die das gesamte Plasma einnahm. Nur die Zellkerne blieben ausgespart. Außerdem fanden wir in einigen Tubuli intraluminale Fluoreszenz, die aggregiertem Uromukoid im Tubuluslumen entsprechen könnte. Die Zuordnung der fluoreszierenden Tubuli zur distalen Region wurde mit Hilfe von konventionell gefärbten Vergleichsschnitten vorgenommen (Abb. 20).

Diese Ergebnisse wurden bei allen untersuchten Tieren gefunden. Insbesondere war kein Unterschied zwischen Mangel-, Pair-fed- und Normalkollektiv festzustellen.

4.19 Steinanalyse

Die polarisationsmikroskopische Untersuchung der Konkremente von 1.35 und 1.37 ergab, daß es sich in beiden Fällen um Weddellit und Struvit handelte.

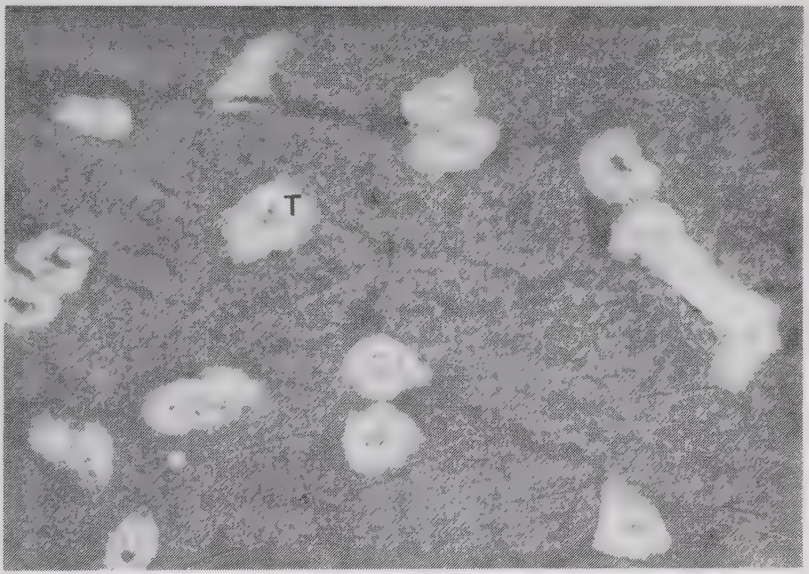


Abb. 20: Immunhistologische Lokalisation von Uromukoid im Rindenbereich der Niere einer Normalratte
Vergrößerung 350fach
T = distaler Tubulus

5. DISKUSSION

5.1 Acht-Stunden-Urin-Volumen

Der Vergleich der Acht-Stunden-Volumina der verschiedenen Kollektive zeigt keine eindeutige Tendenz. In Sammelperiode 1 der zweiten Serie weist das Pair-fed-Kollektiv die geringsten Werte auf, in Sammelperiode 2 schied das Mangelkollektiv signifikant geringere Volumina aus. Möglicherweise ist hierfür eine verminderte Flüssigkeitsaufnahme der Mangelratten verantwortlich. Weiterhin wäre ein Nachlassen der Nierenfunktion im protrahierten Vitamin A-Mangel denkbar. Eine Entscheidung konnte an Hand der gewählten Versuchsanordnung nicht getroffen werden.

5.2 Urin-pH-Wert

Die Mittelwerte des Urin-pH beider Versuchsserien lagen zwischen 5,97 und 6,36. Hinsichtlich dieses Parameters unterscheiden sich die Kollektive nicht signifikant.

Vergleicht man die hier gefundenen Werte mit Literaturangaben, fällt auf, daß bei früheren Untersuchungen höhere pH-Werte gefunden wurden. So ermittelte HAMMARSTEN (zitiert nach (68)) bei einem Ratten-Normalkollektiv ein pH von 6,6 bis 6,7. HEDENBERG (68) gab für eine Gruppe von Vitamin A-Mangeltieren (n = 64) Ergebnisse von 6,0 bis 8,8 an, wobei über die Hälfte der Werte im alkalischen Bereich lag. Für drei mit Östrogenen therapierte Ratten fand dieselbe Autorin ein pH von 6,1 bis 6,6.

Möglicherweise hängen die niedrigeren pH-Werte bei der vorliegenden Untersuchung mit besseren Bedingungen der Tierhaltung zusammen, wodurch Infektionen des Harntraktes

eher vermieden werden können; denn HEDENBERG (68) fand bei Tieren mit alkalischem Urin in einem hohen Prozentsatz Urease-bildende Keime. Da sie bei Ratten mit Blasensteinen fast ausnahmslos eine alkalische Reaktion des Urins fand, schloß sie daraus, daß Vitamin A-Mangel über den Weg von Epithelveränderungen der ableitenden Harnwege mit nachfolgender Infektion und Alkalisierung des Urins zur Harnsteinbildung führt.

Nach den pH-Werten, Sedimentbefunden, Albuminwerten und pathohistologischen Ergebnissen dieser Arbeit kamen Harnwegsinfekte unter Vitamin A-Mangel nicht vor. Somit können unsere Ergebnisse die von HEDENBERG (68) aufgestellte Theorie der Harnsteingenese im Vitamin A-Mangel nicht untermauern.

5.3 Uromukoid

1950 entdeckten TAMM und HORSFALL (119) im menschlichen Urin ein Mukoprotein, das im Serum nicht vorkommt. Es wird nach ihnen TAMM-HORSFALL-Glykoprotein bzw. nach BOYCE (30) Uromukoid genannt. Da es sich hierbei um immunologisch identische Proteine handelt (11,29,30), werden beide Begriffe synonym gebraucht.
Uromukoid ist ein Glykoprotein, das nach SAITO (108) einen Hexosamingehalt von 5,9 % (Isolierungsmethode nach TAMM und HORSFALL (119)) bzw. 5,1 % (Isolierungsmethode nach ANDERSON und MACLAGAN (zitiert nach (108)) aufweist. CORNELIUS und BISHOP (39) ermittelten für das Uromukoid des Schafes einen Galaktosamingehalt von rund 0,4 % des Trockengewichts.

Uromukoid des Menschen besitzt ein Molekulargewicht (MG) von 7×10^6 (10,52). Im Urin wird es normalerweise als Tetramer mit einem MG von 28×10^6 ausgeschieden (27). Bleibt der Urin einige Stunden stehen, desaggregieren die Tetramere (112).

Weiter ist es aus Untereinheiten mit einem MG von ca. 80 000 aufgebaut. Die Behandlung mit Sodiumsodezylsulfat-Lösung (SDS) überführt das native Uromukoid in diese Untereinheiten. Nur diese sind in der Lage, im Agarosegel zu wandern, sie bleiben jedoch immunologisch reaktiv (77).

Im Gegensatz dazu scheint das Uromukoid der Ratte bereits im Nativurin in diesen Untereinheiten vorzuliegen, da eine Vorbehandlung mit SDS-Lösung nicht notwendig ist. Es wandert auch im Nativzustand im Agarosegel (77).

Als bewährte Bestimmungsmethode wurde in dieser Arbeit die Elektroimmundiffusion benutzt (11,77). Gegenüber (77) wurde sie jedoch modifiziert: Während dort 15fach konzentrierter Rattenurin bei 2,5 %iger Antiserumkonzentration gebraucht wurde, erwies sich nunmehr eine hohe Verdünnung des Urins (20 - 50fach) bei 1,5 %iger Antiuromukoidkonzentration als günstig. Möglicherweise hängt dies mit der höheren Reinheit des jetzt benutzten Antiserums zusammen.

Als Bezugswert wurde ein Poolurin (von den Normaltieren der Versuchsserie 1, Sammelperiode 1) verwendet. Wie sich im Verlauf der Untersuchungen herausstellte, ist die Uromukoidkonzentration in diesem Urin recht gering (siehe 4.11). Offenbar nimmt die Uromukoidsynthese in der Wachstumsphase der Tiere kontinuierlich zu, bis sie den Erwachsenenwert erreicht. Dies steht in Einklang mit LEWIS u.a. (88), die mit immunfluoreszenzhistologischen Methoden zeigen konnten, daß bei Rattenembryonen noch keine Uromukoidproduktion nachweisbar ist. Sie setzt erst nach der Geburt ein. Nach drei Tagen sieht man im distalen Tubulus das gleiche Verteilungsmuster wie beim erwachsenen Tier. Wie unsere immunhistologischen Schnitte im Vergleich zur quantitativen Uromukoidausscheidung zeigten, ist dies jedoch nicht gleichbedeutend damit, daß aus identischen Verteilungsmustern auf gleiche Uromukoidmengen im Urin geschlossen werden kann.

Aus dem Fehlen der intrauterinen Uromukoidsynthese läßt sich schließen, daß die Bildung dieses Glykoproteins durch die Umstellung auf das extrauterine Leben induziert wird (88). Es wäre denkbar, daß Bakterien - in ähnlicher Weise soll die Blutgruppenantigenität entstehen, die bei Neugeborenen noch nicht ausgeprägt ist - die Uromukoidsynthese beeinflussen, zumal Kreuzreaktionen zwischen Escherichia coli und Uromukoid (50) nachgewiesen wurden.

Eine weitere Ursache für die erst nach der Geburt in Gang kommende Biosynthese könnte in der Unreife der Niere liegen. So konnten SCHAEVERBEKE und CHEIGNON (110) an Hand von Proteinanalysen und elektronenmikroskopischen Bildern zeigen, daß Glomerula und Tubuli bei der Ratte noch während der Jugendzeit Reifungsprozesse durchlaufen.

Über die Lokalisation des Uromukoid in der Niere liegen widersprüchliche Ergebnisse vor. Während KEUTEL (73) eine Lokalisation im proximalen Tubulus angab, zeigte eine ganze Reihe vor allem neuerer Untersuchungen, daß das Uromukoid vorwiegend im distalen Tubulus, im aufsteigenden Teil der Henleschen Schleife sowie in den Sammelrohren zu finden ist (12,55,69,77,94,95,103,111). Auch die hier angefertigten immunhistologischen Schnitte zeigten eine spezifische Fluoreszenz nur im distalen Tubulusbereich, nicht jedoch in den Glomerula und proximalen Tubuli.

Außerhalb der Niere und des Harntraktes scheint Uromukoid physiologischerweise nicht vorzukommen (67). So konnte es beispielsweise weder im Plasma noch in den Sekreten von Prostata, Urethra und Vagina sowie in der Samenflüssigkeit nachgewiesen werden (54). Lediglich immunologisch teilidentisches Material fand sich in Extrakten von Haut, Faszengewebe und Muskulatur (30). Vielleicht hängt diese Kreuzreaktion mit den in diesen Geweben vorkommenden Glykoproteinen zusammen.

Ferner ist Uromukoid Hauptbestandteil von Harnzylindern (28,54,65,101) und in der sog. Matrix aller Arten von Harnsteinen zu finden (12,28).

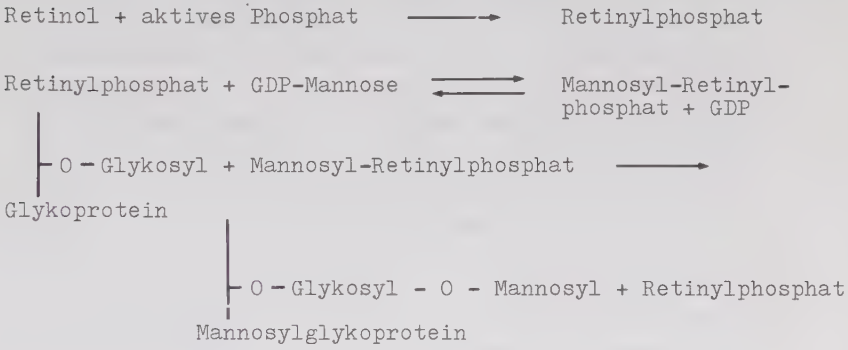
Die Bedeutung dieses Glykoproteins ist bisher noch nicht mit Sicherheit geklärt. So werden ihm folgende Funktionen zugeschrieben:

- Hemmung der viralen Hämagglutination (119,120)
- protektive Wirkung auf das Tubulussystem der Niere ähnlich der Muzinwirkung im Magen (10,12,13)
- Beteiligung am tubulären Elektrolyttransport (12,54)
- kausaler Einfluß auf die Entstehung von Harnsteinen (12,54)

BOYCE und SWANSON (31) sowie DULCE (48) beschrieben bei Steinpatienten eine erhöhte Uromukoidausscheidung im Urin. Demgegenüber zeigen neuere Untersuchungen eher gegenteilige Ergebnisse. So konnten beispielsweise BICHLER und WAGNER (16) signifikant erniedrigte Uromukoidwerte im Urin von Patienten mit Harnsäuresteinen und Patienten mit Nierenbeckenausgußsteinen und renal tubulärer Azidose (RTA) finden.
Außer diesen morphologisch bedingten Alterationen interessierte in dieser Arbeit, welche möglichen Steuermechanismen auf ein Glykoprotein wie Uromukoid einwirken.

Die Beteiligung des Vitamin A an der Glykoproteinsynthese wurde bereits in einigen Gewebearten nachgewiesen:
- unter Vitamin A-Mangel wird ein fukosehaltiges Glykoprotein im Dünndarm der Ratte in geringerem Umfang synthetisiert (90).
- die Trachea von Hamstern produziert im Vitamin A-Mangel weniger Glykoproteine (24).
- auch der Glykoproteingehalt der Cornea ist unter Vitamin A-Depletierung reduziert (74).
- die Leber der Ratte synthetisiert im Vitamin A-Mangel weniger a_1-Makroglobulin (Glykoprotein, das dem menschlichen a_2-Makroglobulin entspricht) (76).

DE LUCA (89) forderte eine direkte Beteiligung des Vitamin A bei der Glykoproteinsynthese in Form des Retinols. Er beschrieb dazu folgenden molekularen Mechanismus (siehe Schema 5):



Schema 5: Molekularer Mechanismus der Glykoprotein-synthese unter direkter Beteiligung des Vitamin A als Retinol (nach 89)

Danach fungiert Retinylphosphat als direkter Mannosedonor für Glykoproteine. Gleiche Ergebnisse erhielten CHI ROSSO u.a. (38) bei Rattenleber-Membranextrakten. Weiterhin konnte eine Stimulierung der Galaktoseübertragung von UDP-Galaktose auf Glykolipide und Glykoproteine in Rattenlebermembranen gefunden werden (41).
In einer Zusammenfassung der bisherigen Ergebnisse über die Beteiligung des Vitamin A an der Glykoproteinsynthese ist GOODMAN (60) der Ansicht, daß die Beteiligung dieses Vitamins an der Bildung von Glykoproteinen wohl sicher sei, daß aber die oben genannten Mechanismen mit Vorsicht zu interpretiern seien und weiterer Untersuchung bedürften.

Die Ergebnisse unserer Untersuchungen zeigen, daß Uromukoid wie andere Glykoproteine unter Vitamin A-Mangel in geringerem Umfang synthetisiert wird.

5.4 Kalzium- und Phosphatausscheidung im Urin

Wir fanden, daß die Kalziumausscheidung im Urin während der Vitamin A-Depletierung erhöht, die Phosphatausscheidung hingegen erniedrigt war. Beide Veränderungen wurden mit zunehmender Dauer des Mangels deutlicher.

Zum Verständnis der Hyperkalziurie und Hypophosphaturie müssen folgende pathophysiologische Mechanismen diskutiert werden:

Über die Bearbeitung des Kalzium im Tubulusapparat sind verschiedene Ergebnisse berichtet worden:
MURAYAMA u.a. (99) fanden bei in situ-Mikroperfusionsversuchen des proximalen Tubulus contortus, daß der Nettoefflux von Kalzium aus dem Tubulus lediglich ein Drittel des Gesamteffluxes betrug, mithin also zwei Drittel aus dem Interstitium wieder zurückgeflossen sind. Daraus schlossen sie einen passiven Reabsorptionsmechanismus für Kalzium, der vom Natriumtransport abhängig sei. Dafür sprechen auch Untersuchungen, wonach das Konzentrationsverhältnis Tubulusflüssigkeit/Glomerulumfiltrat für Kalzium annähernd dem für Natrium entspricht (1).
Im geraden Teil des proximalen Tubulus wurde ein aktiver Kalziumtransport gegen einen chemischen und elektrischen Gradienten gefunden (3).
In der distalen Tubulusregion ist die Resorption von Kalzium unabhängig von Natrium und der Potentialdifferenz, damit also aktiv (118).

Über die zellulären Mechanismen ist bisher wenig bekannt.

BLAUSTEIN (18) beschrieb ein Antiportsystem zwischen Kalzium und Natrium. Dies könnte die Natrium-abhängige Kalziumresorption im proximalen Tubulus contórtus erklären (99,122).
Weiterhin wurde eine Kalzium-abhängige Triphosphatase aus kortikalen Tubuluszellen der Ratte isoliert (74). Allerdings ist die Kalziumaffinität dieses Enzyms recht gering, so daß seine Rolle im Kalziumtransportsystem unklar ist.

Zusammenfassend läßt sich zum Kalziumtransport folgendes festhalten (44,83): 98 % des filtrierten Kalzium werden im Tubulusapparat reabsorbiert, davon 60 % im proximalen Tubulus, 20 % in der Henle-Schleife und je 10 % im distalen Tubulus und den Sammelrohren. Insgesamt findet damit die Kalziumresorption größtenteils im proximalen Tubulus statt, die Feineinstellung ist jedoch in den distalen Abschnitten lokalisiert (44).

Von der filtrierten Phosphatmenge werden rund 70 % im proximalen Tubulus reabsorbiert (26). Daneben existieren auch im distalen Tubulus Resorptionsmechanismen, so daß im Endurin lediglich 17 % des filtrierten anorganischen Phosphat wiedergefunden werden.
Außer diesen Resorptionsmechanismen wurden mit verschiedenen Untersuchungsmethoden (25,26,42) Phosphatsekretionssysteme im Tubulusapparat von Ratten und Hunden nachgewiesen. BOUDRY u.a. (26) fanden in der Flüssigkeit des frühen distalen Tubulus mehr anorganisches Phosphat als im späten proximalen Tubulus, so daß also im frühen distalen Tubulusbereich eine Phosphatsekretion stattfinden muß. Auch BONJOUR u.a. (25) nahmen an, daß einem Phosphatsekretionsmechanismus im distalen Bereich des Nephrons mehr Bedeutung zukommt als im proximalen Tubulus.

Über den zellulären Vorgang der Phosphatresorption im proximalen Nephron herrschen heute folgende Vorstellungen: Wahrscheinlich handelt es sich um einen ATP-abhängigen

Kotransport von anorganischem Phosphat gegen Natrium, wobei ein Phosphation gegen einen elektrischen Gradienten zusammen mit zwei Natriumionen aus dem Tubuluslumen heraustransportiert wird. Dieses System wird durch Parathormon beeinflußt, vermutlich durch direkte Interaktion mit Zellrezeptoren (37).

Über den Phosphatsekretionsmechanismus ist bisher wenig bekannt. BUDDECKE (36) spricht von einem aktiven Transport im distalen Tubulus, der durch Sauerstoffmangel oder Entkoppelung der oxydativen Phosphorylierung gehemmt wird. Parathormon erhöht die Sekretion von Phosphat im distalen Tubulusbereich.

Für die bei unseren Untersuchungen gefundene Hyperkalziurie bzw. Hypophosphaturie gibt es nach dem oben Gesagten folgende Erklärungsmöglichkeiten (siehe auch Abb. 21):

Schreibt man dem Uromukoid eine protektive Wirkung für das Tubulusepithel (10,12,13) bzw. eine Beteiligung am Elektrolyttransport (12,54) zu, kommt es bei verminderter Synthese dieses Glykoproteins im Vitamin A-Mangel zu Funktionsstörungen der Epithelzellen. Berücksichtigt man die Lokalisation des Uromukoid im distalen Tubulusbereich bzw. eines Teils des Kalziumresorptions- und Phosphatsekretionssystems ebendort, könnte eine Schädigung der Tubuluszellen im Vitamin A-Mangel die Hyperkalziurie bzw. Hypophosphaturie erklären.

Als Ursache der Hyperkalziurie ist außerdem eine Senkung des 1,25-$(OH)_2$-Cholekalziferol (D_3) zu diskutieren. Dieses Hormon bedarf zu seiner Bildung der 25-(OH)-D_3-Hydroxylase, die im proximalen Tubulusabschnitt vorkommt (35) und offenbar Vitamin A-abhängig ist (53). 1,25-$(OH)_2$-D_3 selbst ist im distalen Tubulus lokalisiert und steigert hier die Kalziumresorption (44,117) Durch die Verminderung der 25-(OH)-D_3-Hydroxylase im

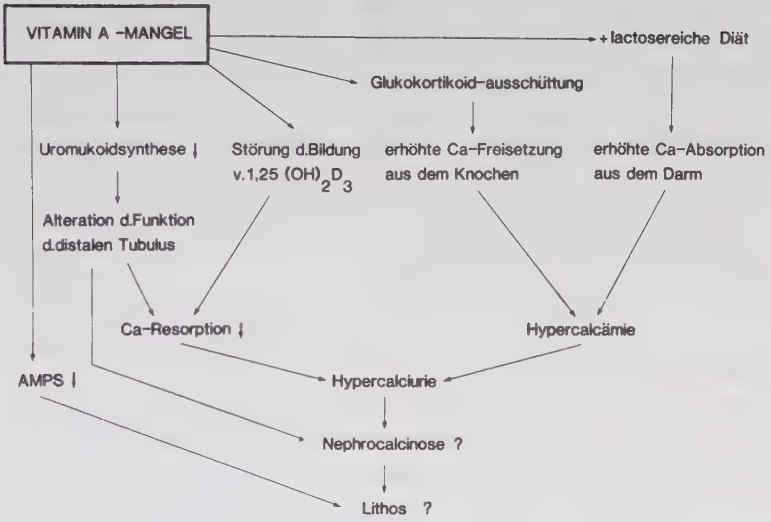


Abb. 21: Vitamin A-Mangel und seine Veränderungen der Uromukoid-, AMPS- und Kalziumausscheidung im Urin unter Vitamin A-Mangel

Vitamin A-Mangel wird der wirksame Vitamin D-Metabolit im distalen Tubulus nicht oder in geringerem Maße gebildet. Diese Senkung kann zu einer erhöhten Ausscheidung von Kalzium im Urin führen (80).
Die Phosphatausscheidung wird in diesem Bereich durch $1,25\text{-}(OH)_2\text{-}D_3$ gesenkt (36,44,80).
Eine entsprechende Wirkung dieses Vitamin D-Metaboliten konnten wir in unserem Experiment nicht feststellen. Wir fanden eine deutliche Reduktion der Phosphatausscheidung im Urin unter Vitamin A-Mangel.
Inwieweit eine mangelhafte Wirkung von Parathormon am Tubulusapparat (Kalzium im Urin erhöht, Phosphat erniedrigt) hierfür eine Rolle spielt, konnte nicht geklärt werden.

Ein weiterer Faktor muß für das Entstehen einer Hyperkalziurie diskutiert werden:
Nach BOGUTH und WEISER (23) kommt es bei akutem Auftreten eines Vitamin A-Mangels zur Transformation der Zona fasciculata der Nebennierenrinde mit verstärkter Glukokortikoidausschüttung. Granulozytose und Lymphopenie sind symptomatisch (23). Die Glukokortikoide führen zu einem verstärkten Kalziumabbau am Knochen und nachfolgender Hyperkalziurie (64).
Die verstärkte Glukokortikoidausschüttung bei der akuten Form des Vitamin A-Mangels muß im Sinne einer Streßreaktion gesehen werden. In der von uns durchgeführten Studie wurden die Tiere jedoch chronisch an Vitamin A depletiert, d.h. sie erhielten bei geringfügigen Gewichtsabnahmen - als empfindlichem Indikator des Vitamin A-Status - eine marginale Dosis (0,5 - 2 IE) Vitamin A. Bei diesem Vorgehen bleibt die Leber Vitamin A-frei, die Transformation der Nebennierenrinde mit erhöhter Glukokortikoidproduktion bleibt jedoch aus, und die Reaktionslage der Tiere wird nicht verändert (23).

Auch Nahrungsfaktoren können zu einer Hyperkalziurie führen: So zeigten GERSHOFF und MCGANDY (58), daß Vitamin A-arme, jedoch laktosereiche Diät bei Ratten zu einer verstärkten Kalzium- und Oxalsäureausscheidung im Urin führt. Bei laktosereicher Diät ohne Vitamin A-Mangel erreichten die Veränderungen bei weitem nicht dieses Ausmaß. Die Wirkung von Laktose auf die Kalziumausscheidung läßt sich durch eine erhöhte Absorption von Kalzium aus dem Darm und konsekutiver Hyperkalzämie erklären (58).
MAJUMDAR und GUPTA (92) stellten fest, daß Vitamin A-Mangel bei Ziegen zu einer erhöhten Kalziumdeposition in der Niere führte. Besonders ausgeprägt waren diese Veränderungen im Bereich des Nierenmarks. Je länger die Tiere dem Mangel ausgesetzt wurden, desto stärker traten die Verkalkungen hervor.

5.5 Magnesium im Urin

BACKMAN (6) berichtete über einige Studien, die zeigten, daß die Magnesiumausscheidung im Urin bei Harnsteinpatienten erniedrigt sei (EVANS u.a., OREOPOULOS u.a., HODGKINSON). Dafür sprechen auch Untersuchungen, wonach Magnesium die Löslichkeit von Kalziumoxalat erhöhe (45).

Demgegenüber stellten FELIX u.a. (52) fest, daß Magnesium die Bildung dieser Kristalle erst in unphysiologisch hohen Konzentrationen hemmt, die im Urin nicht vorkommen. Somit komme dem Magnseium keine inhibitorische Wirkung bei der Lithogenese zu. Auch LUX u.a. (91) fanden bei Harnsteinpatienten keine Verminderung der Magnesiumausscheidung im Urin verglichen mit Normalpersonen. Allerdings scheint Magnesium das Urinvolumen zu beeinflussen: So zeigten Meerschweinchen, die magnesiumarm ernährt wurden, eine Verdoppelung des Urinvolumens (98).

Im Zusammenhang mit Vitamin A-Mangel ist interessant, daß Fehlernährung Einfluß auf den Magnesiumstoffwechsel hat (115). So verringerten verschiedene Formen von Fehlernährung (atherogen, kohlehydratreich u.a.) die Magnesiumausscheidung im Urin (115).
Bei unseren Untersuchungen fanden wir keinen eindeutigen Hinweis dafür, daß Vitamin A-Mangel den Magnesiumstoffwechsel beeinflußt.

5.6 Harnsäure im Urin

Die Harnsäureausscheidung der einzelnen Kollektive unterschied sich bei unserer Studie nicht signifikant. Offenbar hat Vitamin A keinen Einfluß auf die Harnsäureausscheidung im Urin. Auffällig war jedoch, daß die Harnsäurewerte bei allen Kollektiven der Sammelperiode 2 wesentlich höher lagen als in Sammelperiode 1 (2. Serie). Dieser Befund korreliert gut mit dem höheren Anteil an Uraten im Sediment dieser Tiere. Möglicherweise hängt die höhere Harnsäureausscheidung in Sammelperiode 2 mit dem Alter bzw. größeren Körpergewicht der Ratten zu dieser Zeit des Versuchs zusammen.

5.7 Zitrat im Urin

Zitrat gehört zu den normalen Bestandteilen des Urins und bildet mit Kalzium lösliche Komplexe. Dies wurde bereits in den dreißiger Jahren dieses Jahrhunderts von HASTINGS u.a. (66) und GREENWALD (61) gezeigt. So verhindert Zitrat die Präzipitation von Kalziumoxalatkristallen (96) und Kalziumphosphatkristallen (17). Bei Normalpersonen trägt es bis zu 50 % der inhibitorischen Aktivität bezüglich der Kalziumphosphatkristallisation bei (17).

HODGKINSON (71) fand eine erniedrigte Zitratausscheidung bei Harnsteinpatienten. Dieses Ergebnis wurde später von WELSHMAN und MCGEOWN (125) bestätigt. Demgegenüber fanden LUX u.a.(91) keine signifikanten Unterschiede der Zitratausscheidung zwischen Steinträgern und Normalpersonen. SCHWILLE u.a. (114) berichteten über eine geringere Zitratmenge im Urin von Patienten mit rezidivierender Hyperkalziurie und mit primärem Hyperparathyreoidismus.

Kalzium- und Zitratstoffwechsel sind eng miteinander verbunden. So zeigte HODGKINSON (71) erhöhte Serumzitratwerte bei Patienten mit Hyperkalzämie, unabhängig von der Genese. Umgekehrt waren die Zitratwerte bei Hypokalzämie am niedrigsten.
CRAWFORD (40)demonstrierte, daß die Zitratausscheidung parallel zum Zitratgehalt der Niere verläuft und weniger von der Serumzitratkonzentration abhängig ist. Der Zitratgehalt der Niere wiederum ist vom Säure-Basen-Haushalt abhängig. Alkalische pH-Werte in den Tubuluszellen erhöhen, saure erniedrigen die Zitratwerte.

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, daß die Zitratausscheidung im Urin sowohl bei den Vitamin A-Mangeltieren als auch beim Pair-fed-Kollektiv signifikant erniedrigt war. Dies deutet darauf hin, daß die geringeren Zitratwerte weniger ein Effekt des Vitamin A-Mangels als vielmehr des geringeren Körpergewichts der Tiere sein könnten. Weiterhin spricht für diesen Zusammenhang, daß auch die Normaltiere mit zunehmendem Körpergewicht mehr Zitrat ausschieden.

5.8 Saure Mukopolysaccharide (AMPS) im Urin

Die AMPS, wegen ihres regelmäßigen Aufbaus aus Aminozuckern auch Glykosaminoglykane genannt (36), setzen sich aus periodisch wiederkehrenden Disaccharideinheiten zusammen.

Im Gewebe kommen sie nicht in freier Form, sondern kovalent an Proteine gebunden vor. Die zusammengesetzten Moleküle heißen Proteoglykane. Von den AMPS sind acht verschiedene Typen bekannt, die sich lediglich durch ihre Monosaccharide bzw. ihren Sulfatgehalt unterscheiden (36).

AMPS sind Endprodukte des Bindegewebsstoffwechsels (15). Vermutlich ist ihre Ausscheidung im Urin vom Metabolismus des Bindegewebes abhängig. So fanden RICH u.a. (106) eine höhere AMPS-Ausscheidung im Urin von Kindern verglichen mit Erwachsenen. Die Erwachsenenwerte erreichen Mädchen mit 17, Jungen mit 21 Jahren.
Nach neueren Untersuchungen kommen AMPS auch in der Basalmembran bzw. im Mesangium der Nierenglomerula vor (32).

Die Bedeutung der AMPS für die Lithogenese wurde immer wieder diskutiert:
Bei Patienten mit Struvitsteinen (vorwiegend Nierenbecken-ausgußsteinen) ermittelten BICHLER u.a. (15) eine signifikant geringere Ausscheidung dieser Substanzen im Urin, nicht jedoch bei Harnleiter- und Nierenbeckensteinen. Die Untersuchungen von ROBERTSON u.a. (107) zeigten, daß AMPS einen inhibitorischen Effekt auf die Kristallisation kalziumhaltiger Steine ausüben. SALLIS und LUMLEY (109) extrahierten GAG aus dem Urin von Normalpersonen und fraktionierten sie in ihre Bestandteile. Davon inhibierten Chondroitinsulfat, Hyaluronsäure und ein unbekanntes Material von einem MG über 10 000 (es enthielt Uronsäure und Hexosamin) die Kalziumoxalatkristallisation in vitro. Ferner wurden AMPS als Bestandteile der sog. Matrix kalziumhaltiger Steine gefunden (28).

In unserer Studie waren die AMPS-Werte im Urin bei den Vitamin A-depletierten Ratten signifikant erniedrigt. Der Unterschied zu den anderen Kollektiven wurde mit der Dauer des Vitamin A-Mangels deutlicher. Da die AMPS zumindest größtenteils nicht aus der Niere stammen (15),

scheint auch der Bindegewebsstoffwechsel von Vitamin A beeinflußt zu werden. So konnte im Vitamin A-Mangel eine Steigerung des Sulfateinbaus in die Mukopolysaccharide des Bindegewebes von Rattenherzen festgestellt werden (105). Bei Küken hingegen wurde unter Vitamin A-Depletierung eine verminderte AMPS-Synthesé im Drüsenmagen gefunden (49).

Möglicherweise kommt der verminderten AMPS-Synthese eine Bedeutung bei der Lithogenese im Vitamin A-Mangel zu (siehe Abb. 21).

5.9 Gesamteiweiß im Urin

Eine statistische Auswertung der Befunde wurde nicht durchgeführt, da es sich bei der Untersuchung mit Teststreifen lediglich um eine semiquantitative Methode handelt (siehe 3.7). Ein Vergleich zeigt jedoch, daß kein wesentlicher Unterschied zwischen den einzelnen Kollektiven besteht. Vitamin A scheint also keinen bestimmenden Einfluß auf die Gesamteiweißausscheidung im Urin zu besitzen.

5.10 Albumin im Urin

Proteine passieren normalerweise bis zu einem Molekulargewicht von 200 000 das glomeruläre Filter (9). Jedoch werden im Tubulusapparat durch Pinozytose ca. 99 % der filtrierten Proteine rückresorbiert (43).
Die Eiweißausscheidung im Urin ist bei entzündlichen Nierenerkrankungen erhöht (9). Dem Albumin als quantitativ wichtigstem Serumprotein kommt auch bei entzündlicher Proteinurie große Bedeutung zu. Ferner besteht der größte Teil der Urineiweiße der Ratte aus Albumin (110). Aus diesen Gründen wurde bei der vorliegenden Arbeit Albumin als ein Parameter für entzündliche Nieren- und Harnwegserkrankungen untersucht.

Im Vitamin A-Mangel fanden wir keine signifikanten Veränderungen der Albuminausscheidung im Urin. Dies ist ein Hinweis dafür, daß - im Gegensatz zu früheren Untersuchungen (19,68) - eine Infektion der Harnwege unter Vitamin A-Depletierung keineswegs obligat sein muß. Ebenso konnte bei der Urinsediment- und pathohistologischen Untersuchung der Nieren und Harnblasen kein Anzeichen für eine Harnwegsinfektion gefunden werden (siehe 5.12 und 13).

5.11 $ß_2$-Mikroglobulin im Urin

ß2-Mikroglobulin ist ein Protein mit einem Molekulargewicht von 11 800 und gehört damit zur Gruppe der Proteine mit niedrigem MG (72). Seine biologische Funktion ist bislang nicht hinreichend geklärt. Obwohl die Aminosäuresequenz des Moleküls teilweise der C-Region verschiedener Immunglobulinketten entspricht, ist $ß_2$-Mikroglobulin mit den Immunglobulinen nicht verwandt (116).
Mit immunfluoreszenzmikroskopischen Methoden konnte es an der Oberfläche von T- und B-Lymphozyten nachgewiesen werden, außerdem scheint es mit den Histokompatibilitätsantigenen (HL-A) assoziiert zu sein (62). MICHAELSON u.a. (97) wiesen bei Mäusen einen genetischen Polymorphismus des $ß_2$-Mikroglobulins nach, die Varianten zeigten unterschiedliche Mobilität bei der Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese.

Besonderes Interesse hat $ß_2$-Mikroglobulin für die Diagnostik von Nierenerkrankungen erlangt. So lassen sich glomeruläre und tubuläre Erkrankungen durch typische Proteinuriemuster unterscheiden (22). Bei glomerulären Störungen gibt es eine selektive (vorwiegend niedermolekulare Proteine) und eine unselektive (nieder- und hochmolekulare Proteine) Proteinurie. Die tubuläre Proteinurie zeichnet sich durch eine vermehrte Ausscheidung kleiner (MG 10 000 - 90 000) Eiweißmoleküle aus, bedingt

durch eine Schädigung der Rückresorption im proximalen Tubulus (9). Die tubuläre Proteinurie findet man bei Pyelonephritis, toxischem Tubulusschaden, akutem Nierenversagen und nach Nierentransplantation (9).
Als diagnostisches Kriterium für die tubuläre Proteinurie eignet sich besonders die Bestimmung von $ß_2$-Mikroglobulin im Urin (als repräsentativem Vertreter der niedermolekularen Proteine) (51).

Bei Patienten mit Urolithiasis fanden BICHLER u.a. (14) folgendes Verhalten von $ß_2$-Mikroglobulin: Bei Steinträgern, die zugleich tubuläre Defekte aufwiesen (Nierenbeckenausgußsteine, Infektsteine) war die $ß_2$-Mikroglobulinausscheidung im Urin zu einem hohen Prozentsatz erhöht. Im Gegensatz dazu waren die Werte bei Steinerkrankungen, die seltener mit tubulären Schädigungen einhergehen (Harnleitersteine, Oxalatsteine),häufig normal. Diese Ergebnisse zeigen, daß tubuläre Alterationen bei der Pathogenese bestimmter Steinarten Bedeutung zukommt.

Unsere Ergebnisse der $ß_2$-Mikroglobulinbestimmung im Urin zeigen keine eindeutigen Veränderungen. Die Kollektive zeigen wechselnde Werte. Insbesondere läßt sich keine Erhöhung der $ß_2$-Mikroglobulinausscheidung im Urin der Vitamin A-Mangeltiere nachweisen.

In beiden Versuchsserien war jedoch die Ausscheidung der jüngeren Tiere (bei den Normalkollektiven) höher als die der älteren. Möglicherweise liegt dieses Verhalten an der erst allmählichen Ausreifung des Tubulusapparats (110). Diese Ergebnisse stimmen auch mit KARLSSON und HELLSING (72) überein, die die $ß_2$-Mikroglobulin- und Albuminausscheidung bei Kindern untersuchten.

5.12 Urinsediment

Die Sedimentbefunde zeigten zwischen den einzelnen Kollektiven keine nennenswerten Unterschiede. Leukozyten und Erythrozyten konnten nur vereinzelt, Bakterien nicht nachgewiesen werden. Dies weist darauf hin, daß auch bei den Vitamin A-Mangeltieren keine Harnwegsinfekte vorlagen. Das Ergebnis deckt sich gut mit den anderen Parametern, die Hinweise auf Infektionen des Harntraktes geben könnten (siehe 5.9, 5.10 und 5.13).

Bei den Kristallen fiel ein höherer Anteil an Uraten bei allen Kollektiven der Sammelperiode 2 (Serie 2) auf. Dieser Befund korreliert mit den durchweg höheren Harnsäurewerten im Urin bei diesen Tieren. Möglicherweise spielt das höhere Alter der Ratten zur Zeit dieser Sammelperiode eine Rolle (siehe auch 5.6).

5.13 Sektion und pathohistologische Untersuchung

Wie schon Sediment-, pH- und Albuminbestimmung ergaben, zeigte auch die histologische Untersuchung der Nieren und Harnblasen, daß es unter der chronischen Vitamin A-Depletion nicht zu einer Infektion der Harnorgane gekommen ist.
Mikrolithenbildung fanden wir bei allen Kollektiven, wenngleich bei den Mangeltieren etwas ausgeprägter. Offenbar neigen Ratten auch bei normaler Ernährung zu Kalkablagerungen in den Tubuli; schon VAN LEERSUM (86) beschrieb ähnliche Befunde bei Normalratten.

Vergleicht man unsere histologischen Ergebnisse mit früheren Arbeiten, fallen erhebliche Unterschiede auf: So fand HEDENBERG (68) in ca. 90 % der Vitamin A-Mangeltiere massive Hyperkeratosen der Harnblase, speziell im Bereich des trigonum vesicae, mit epithelialer und

submuköser Rundzellinfiltration. Das Blasenlumen war mit Zelldetritus angefüllt. Bei 42 % dieser Tiere kam es zu einer erheblichen Dilatation der Ureteren, auch hier waren schwere Hyperkeratosen zu sehen. Die Nieren zeigten eine mäßige Infektion mit hyperkeratotischen Nierenbecken. Die Dilatation der Ureteren war durch eine Urinstase infolge Verstopfung der Urethra durch Zelldetritus bedingt.

BLISS u.a. (19) fanden unter Vitamin A-Mangel in einigen Fällen eine Entzündung und Dilatation der Blase, im Lumen sammelte sich eine albuminartige Flüssigkeit. Abszesse im Bereich des trigonum vesicae traten häufig auf.

In einer Reihe weiterer Untersuchungen (100, 121) zeigten Vitamin A-frei ernährte Ratten Infektionen und epitheliale Veränderungen.

Hingegen beobachtete VAN LEERSUM (85,86) keine Harnwegsinfekte im Vitamin A-Mangel, jedoch Mikrolithen in den Tubuli, die der Morphologie nach verkalkten und aus dem Epithelverband losgelösten Tubuluszellen entsprechen könnten. Dieser Befund stimmt am besten mit den Ergebnissen dieser Studie überein.

MAJUMDAR und GUPTA (92) stellten bei Vitamin A-frei ernährten Ziegen fest, daß der Kalziumgehalt, besonders im Nierenmark, höher war als bei Normalziegen. Mit länger bestehendem Mangel nahm der Kalziumgehalt der Nieren immer mehr zu. Steine konnten allerdings nicht gefunden werden. Die Autoren zogen daraus den Schluß, daß Vitamin A wohl zur Urolithiasis prädisponiere, daß jedoch noch weitere Faktoren hinzukommen müßten.

MCCARRISON (93) beobachtete bei Vitamin A-Mangelratten häufig Steine zusammen mit einer Zystitis, Hydro- oder Pyonephrose. Andererseits fand er auch Tiere mit massiver Harnwegsinfektion ohne Urolithiasis wie auch Ratten, die Konkremente bildeten ohne infiziert zu sein.

Zusammenfassend kann man festhalten: Entzündliche Veränderungen des Harntrakts sind unter Vitamin A-Mangel nicht obligat, wie einige frühere Arbeiten (85,86,93) und diese Untersuchung zeigten. Möglicherweise hängt die hohe Infektrate, die viele Autoren beschrieben, mit den Bedingungen der Tierhaltung zusammen. Weiterhin ist es denkbar, daß eine verstärkte Glukokortikoidausschüttung dafür verantwortlich ist: Tritt nämlich der Vitamin A-Mangel akut auf, kommt es zur Transformation der zona fasciculata mit verstärkter Glukokortikoidsynthese (23). Symptome dafür sind Lymphopenie und Granulozytose. Daraus resultiert eine mangelhafte Antikörperproduktion mit geschwächter Infektabwehr (63,78). Entsprechende Vorkehrungen (siehe 2.3.1) schlossen ein akutes Auftreten des Vitamin A-Mangels bei unseren Untersuchungen aus.

Andererseits scheint Vitamin A-Mangel die Tubulusepithelien zu schädigen, so daß es zu Funktionsstörungen kommt (siehe 5.4). Hyperkalziurie und Zellschädigung können zu metastatischer und dystropher Verkalkung der Tubulusepithelien (Nephrokalzinose) führen (57). Die geschädigten, verkalkten Zellen können aus dem Epithelverband gelöst werden und als Mikrolithen durch das Tubulussystem transportiert werden. Dieser Pathomechanismus liegt möglicherweise den Befunden von VAN LEERSUM (85,86) und unseren Ergebnissen (siehe Abb. 21) zu Grunde. Wahrscheinlich benötigt dieser Vorgang der Zellschädigung eine lange Dauer der Vitamin A-Depletierung, wie die Befunde der vorliegenden Arbeit zeigen. Vielleicht ist es möglich, mit elektronenmikroskopischen Methoden eine Zellschädigung schon früher sichtbar zu machen.

5.14 Steinbildung

In der Literatur wurden sehr unterschiedliche Ergebnisse bezüglich Harnsteinfrequenz und -zusammensetzung unter Vitamin A-Mangel angegeben.

OSBORNE und MENDEL (102) depletierten 857 Ratten mit "fettlöslichem Faktor A" und fanden bei rund 10 % der Tiere Harnsteine, die fast ausschließlich in der Blase lokalisiert waren. Sie hielten die Urolithiasis im Vitamin A-Mangel für eine Folge von Harnwegsinfekten mit alkalischem Urin.

FUJIMAKI (56) fand bei Ratten, die Vitamin A-depletiert waren, Blasensteine, die in der Hauptsache aus Phosphaten bestanden. Er betonte ausdrücklich, daß die Dauer der Vermangelung entscheidende Bedeutung für die Lithogenese habe.

Dahingegen zeigte MCCARRISON (93), daß der Gipfel der Steinfrequenz bei Ratten im Alter von 120 Tagen auftrat, wenn sie von Jugend an mit Vitamin A unterversorgt wurden. Er fand dabei vorwiegend Magnesium-Ammonium-Phosphat-, Kalziumkarbonat- und Kalziumhydroxidsteine.

VAN LEERSUM (85,86) entdeckte bei 30,5 % von 645 Tieren im Vitamin A-Mangel Harnsteine, häufiger bei männlichen Tieren. Diese Steine fanden sich meist im Nierenbecken oder in der Blase. Es handelte sich um Kalzium- und Magnesium-Ammonium-Phosphatsteine, seltener Kalziumoxalat. Anzeichen für Harnwegsinfekte wurden kaum gefunden, der Urin reagierte in den meisten Fällen sauer. Wie bereits in 5.13 ausgeführt, glaubte VAN LEERSUM, daß die Steinbildung im Vitamin A-Mangel nicht infektbedingt sei, sondern über eine Zellschädigung mit Verkalkung, Lösung aus dem Epithelverband und Ausschwemmung als Mikrolithen durch die Tubuli abläuft.

BLISS u.a. (19) stellten bei 57,1 % der Vitamin A-frei ernährten Ratten Blasensteine fest. Die Konkremente waren sehr klein (0,09 bis 3,00 mm) und verdienten nach Ansicht der Autoren eher die Bezeichnung Harnsand. Lediglich bei zwei Mangeltieren lagen Nierenbeckensteine vor. Chemisch

gesehen waren es vorwiegend Kalzium- und Magnesium-Ammonium-Phosphatsteine. Daneben traten bei den Mangeltieren gehäuft Harnwegsinfekte auf, weshalb die Autoren eine Infektion als Ursache der Steinentstehung ansahen.

HEDENBERG (68) erhielt bei 10 % der Vitamin A-frei ernährten Ratten Blasensteine. Der Urin dieser Tiere war zumeist alkalisch, bakteriologisch fand sie häufig Urease-bildende Bakterien. Deshalb hielt sie die Urolithiasis unter Vitamin A-Mangel für infektbedingt.

Einige weitere Autoren waren ebenso der Ansicht, daß die Lithogenese im Vitamin A-Mangel über den Umweg einer entzündlichen Veränderung der Harnwege entstünde (100,121).

GERSHOFF und MCGANDY (58) fanden, daß die Kombination von Vitamin A-Mangel und Laktose als Hauptbestandteil der Kohlehydrate der Nahrung zu Harnsteinen, meist in der Blase, in der Hälfte der Fälle in den Nierenkelchen, führte. Nach fünfmonatiger Versuchsdauer war der Befund nicht sehr ausgeprägt, erst nach 7 bis 8 Monaten zeigten die meisten der so ernährten Tiere Steine. Weiterhin konnten diese Autoren zeigen, daß geringe Mengen von Saccharose zusätzlich zu dieser Nahrung die Urolithiasis verhinderte. Laktose-nahrung mit ausreichender Vitamin A-Versorgung führte nicht zu Harnsteinen. Ungefähr 75 % der Tiere mit Harnsteinen wiesen eine Hypertrophie der Harnblasenwand auf, die in einem Teil der Fälle maligne entartete.
Ernährte man die Tiere gänzlich Vitamin A-frei und laktose-reich, traten die beschriebenen Veränderungen bereits nach dreimonatiger Versuchsdauer auf.

Die Steine bestanden aus Apatit und Weddellit. Teils handelte es sich um sandkorngroße Konkremente, teils war die Blase mit größeren Steinen angefüllt.

Nach GERSHOFF und MCGANDY (58) wirkt Laktose auf folgende Weise lithogen: Sie erhöht die Kalziumabsorption im Darm, führt damit zur Hyperkalzämie und nachfolgend zur Hyperkalziurie (siehe Abb. 21). Die Autoren fanden bei laktosereich ernährten Ratten bedeutend höhere Kalziumwerte im Urin als bei herkömmlich aufgezogenen Tieren. Überraschend war auch die Oxalatausscheidung dieser Tiere zwei- bis dreimal so hoch wie üblich.

Wir fanden bei zwei Mangeltieren (1.35 und 1.37) sandförmige Konkremente im Nierenbecken, die aus Weddellit und Struvit bestanden. Betrachtet man das gesamte Mangelkollektiv als Gesamtheit (= 100 %), entspricht dies einem Prozentsatz von 4 %, legt man nur die am Ende des Versuchs noch lebenden Tiere (n = 15) als Gesamtheit zu Grunde, beträgt der Anteil der Tiere mit Konkrementen rund 13 %.

Bei beiden Tieren war die Uromukoidausscheidung erniedrigt, beide zeigten eine ausgeprägte Hyperkalziurie. Weiterhin fanden sich bei diesen Ratten hohe Mikrolithenzahlen im Nierenmark.
Diese Befunde sprechen dafür, daß Vitamin A-Mangel über eine Verminderung der Uromukoidsynthese, wie dies unter 5.4 diskutiert wurde, zur Urolithiasis führen kann (siehe Abb. 21). Unsere Ergebnisse zeigen weiterhin, daß eine Infektion bei der Lithogenese unter Vitamin A-Depletion nicht unbedingt eine Rolle spielen muß und daß die Dauer des Mangels einen bedeutenden Einfluß hat, da zunächst nur die Uromukoidsynthese beeinträchtigt ist, bevor andere Veränderungen auftreten.

6 ZUSAMMENFASSUNG

Die entscheidenden Schritte in der Pathogenese der Urolithiasis sind bis heute nicht geklärt. Im Zusammenhang mit der Bildung der sog. Harnsteinmatrix wird häufig die Bedeutung saurer Mukoproteine wie Uromukoid diskutiert. In früheren Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß dieses Glykoprotein bei bestimmten Harnsteinerkrankungen vermindert im Urin ausgeschieden wird.
Somit stellte sich die Frage, ob Uromukoid gewissen Steuermechanismen unterliegt. Immerhin zeigte DE LUCA, daß verschiedene Glykoproteine von Vitamin A beeinflußt werden. Dies ist von besonderem Interesse, da bereits in der älteren Forschung (OSBORNE u.a.,VAN LEERSUM) eine gehäufte Harnsteinbildung im Vitamin A-Mangel beobachtet wurde.

Ausgehend von diesen Zusammenhängen wurden männliche Fü-Albinoratten in der 4. Lebenswoche von ihren Muttertieren abgesetzt und ab der 9. Woche chronisch an Vitamin A depletiert. Im Alter von 14 - 18 bzw. 21 - 26 Wochen wurde Urin für die Bestimmung folgender Parameter gesammelt: pH-Wert, Kalzium, Magnesium, Phosphor, Harnsäure, Zitrat, saure Mukopolysaccharide (AMPS), Gesamteiweiß, Albumin, Uromukoid, $ß_2$-Mikroglobulin und Sediment.
Am Ende des Versuchs wurden die Ratten geröntgt und anschließend seziert. Ferner wurde der Lebergehalt an Vitamin A bestimmt. Die Nieren und Harnblasen wurden histologisch untersucht, eine Lokalisation des Uromukoid wurde mit immunfluoreszenzoptischen Methoden durchgeführt. Harnkonkremente wurden polarisationsmikroskopisch analysiert.

Folgende signifikante Veränderungen wurden im chronischen Vitamin A-Mangel beobachtet:
Die Uromukoidausscheidung war frühzeitig erniedrigt, später kam es zu Hyperkalziurie und Hypophosphaturie. AMPS wurden ebenfalls in geringerer Menge im Urin ausgeschieden. Zwei

Mangeltiere hatten sandförmige Konkremente im Nierenbecken, die aus Weddellit und Struvit bestanden. Beide Ratten wiesen niedrige Uromukoidwerte auf, beide zeigten eine ausgeprägte Hyperkalziurie. Eine Infektion der Mangeltiere konnten wir nicht feststellen.

Folgende Ursachen müssen für die genannten Veränderungen diskutiert werden:
Wie andere Glykoproteine wird auch Uromukoid durch Vitamin A gesteuert. Unter Annahme einer protektiven Funktion des Uromukoid für das Tubulusepithel führt seine verminderte Synthese zu Störungen der distalen Tubulusfunktion. Es kommt zu Hypophosphaturie und Hyperkalziurie, Nephrokalzinose und Lithiasis sind mögliche Folgen.

Eine weitere Ursache der Hyperkalziurie kann auch eine Störung der Hydroxylierung des 25-Hydroxycholekalziferol in der Niere sein. Die 25-OH-D_3-Hydroxylase ist im Vitamin A-Mangel vermindert. Daraus resultiert ein geringeres Angebot an wirksamem Vitamin D_3, wodurch die Kalziumresorption im Tubulussystem abnimmt.

In diesem Zusammenhang kann ferner die verminderte AMPS-Ausscheidung bedeutsam sein. Immerhin wurden bei Patienten mit Nierenbeckenausgußsteinen niedrige AMPS-Werte gefunden.

Inwieweit dem einen oder anderen der hier beschriebenen Wege letztlich mehr Bedeutung bei der Pathogenese der hier genannten Veränderungen zukommt, müssem weitere Untersuchungen ergeben. Möglicherweise kommt dem Zeitfaktor bei der Entstehung der Urolithiasis große Bedeutung zu.

7 ANHANG

TABELLEN

Kasein extr.	18 Gew. %
Reisstärke	54 "
Kokosfett, durchgeblasen bei 80 °C	13 "
Salzmischung I	5 "
Trockenhefe	10 "

Zugabe: 1 Liter nachstehend beschriebener Vitaminlösung auf 40 kg Futter

Salzmischung I:

Natriumchlorid	5,000 Gew. %
Kalziumlaktat + 5 HOH	35,000 "
Trikalziumphosphat	15,000 "
Eisen II - glukonat	3,210 "
Kaliumjodid	0,090 "
Kupfersulfat + 5 HOH	0,030 "
Magnesiumsulfat + 3 HOH	5,500 "
Kaliumphosphat sek.	26,527 "
Natriumphosphat sek. wasserfrei	9,600 "
Zinkkarbonat	0,020 "
Mangansulfat	0,020 "
Natriumfluorid	0,003 "

Tab. 1: Vitamin A-freies Futter A 103 der Firma Hoffmann-La Roche & Co AG, Basel/Schweiz

Vitaminlösung:

Thiamin	2,00 g
Riboflavin-5-phosphat	8,00 g
Kalzium-D-Pantothenat	20,00 g
Cholinchlorid	571,50 g
Nikotinsäureamid	100,00 g
Pyridoxin	4,00 g
Vitamin D_2 Typ 500 CWS	2,29 g
Vitamin E, 10 %ige Lösung	571,40 ml

Die eingewogene Vitaminmenge wird in 5 Liter aqua dest. gelöst.

Fortsetzung

Tab. 1: Vitamin A-freies Futter A 103 der Firma Hoffmann-La Roche & Co AG, Basel/Schweiz

DOKUMENTATIONSBOGEN FUER DIE SAMMELPERIODE VOM 280680 BIS 220980

VERSUCHSSERIE 1

NORMALKOLLEKTIV URINKONZENTRATIONEN

NR	U-VOL ml	URIN pH	CA mg/dl	P mg/dl	MG mg/dl	HARNS mg/dl	CITR mg/dl	AMPS mg/dl	G-EIW mg/dl	ALB mg/dl	THGP NE/dl	B2-M ug/l
N 51	20 5	6.09	5.16	288	16.8	32.0	64.0	0.64	30	11.5	0.7	4.7
N 52	27.5	6.32	3.27	279	24.9	18.0	62.0	0.45	30	15.5	3.6	5 2
N 53	26.0	6.07	4 72	264	16.6	21.0	62 0	0 47	30	13.0	3.8	3.3
N 54	15.0	6.42	3.93	279	16 4	30.0	95.0	0.60	100	20.5	7 5	3.1
N 55	91 5	6.52	2.20	66	7.2	9.0	70.0	0.06	30	6.5	0.3	2.8
N 56	41 5	6.52	3 96	156	15 4	20.0	80 0	0.15	30	9 0	0 6	2 9
N 57	12.0	6.18	5.72	454	17.0	47.0	212.0	0.13	100	22.0	0.6	15 9
N 58	23.0	6.16	5 16	313	17.1	26 0	85.0	0.17	100	20.5	3 8	4.0
N 59	13.0	6.41	4 46	532	17.2	58 0	235.0	0.61	100	23 0	0.9	5 4
N 60	28.5	6.44	3.59	246	16.3	27.0	65.0	0.58	30	9.0	0.6	2.7
N 61	42.5	6.29	3.41	121	15.7	15.0	32.0	0.15	30	6.5	1.5	17.8
N 62	23.0	6.38	6.16	275	17.3	27.0	130.0	0.60	30	8.0	0.6	9.3
N 63	31 5	6.39	4.84	246	15.9	20 0	32.0	0.40	30	11.5	1.2	2.5
N 64	35.5	6.39	6.36	231	16.1	18.0	112.0	0.23	30	15.5	0.8	2.8
N 65	27.0	6.65	2.72	217	15.3	21.0	162.0	0.36	30	11.5	0.5	1.5
N 66	36.0	6.41	4.76	236	16.5	24.0	132.0	0.43	30	9.0	0.4	25.8
N 67	18.5	6.22	4.12	317	17.0	30.0	160.0	0.61	100	17.0	4.4	2.2
N 68	30.0	6.52	2.62	242	15.3	18.0	125.0	0.43	30	11 5	1.2	6.7
N 69	22.0	6.21	4.00	276	17.5	24.0	137.0	0.41	30	13.0	0.4	2.6
N 70	20.5	6.69	2.66	266	15.0	28.0	185.0	0.59	100	11.5	1.3	3.4
x̄	29 8	6 36	4.19	265	16.3	26 6	111 0	0 40	51	13.3	1.7	6.2
s	17.1	0.17	1.19	100	3.0	11.0	58.0	0 19	33	5.1	1.9	6.4

Tab. 2: Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen der Urinkonzentration der untersuchten Parameter (Sammelperiode 1 der 1. Serie, Normalkollektiv)
Abkürzungen: U-VOL: Urinvolumen gesamt;
CA: Kalzium; P: Phosphor; MG: Magnesium; HARNS: Harnsäure; CITR: Zitrat; AMPS: saure Mukopolysaccharide; G-EIW: Gesamt-Eiweiß; ALB: Albumin; THGP: Tamm-Horsfall-Glykoprotein = Uromukoid; B2 - M: $ß_2$-Mikroglobulin

DOKUMENTATIONSBOGEN FUER DIE SAMMELPERIODE VOM 211000 BIS 121100

VERSUCHSSERIE 1

NORMALKOLLEKTIV URINKONZENTRATIONEN

NR	U-VOL. ml	URIN pH	CA mg/dl	P mg/dl	MG mg/dl	HARNS. mg/dl	CITR mg/dl	AMPS mg/dl	G-EIW. mg/dl	ALB mg/dl	THGP NE/dl	B2-M ug/l
N 51	28.0	6.07	4.96	266	17.1	29.0	120.0	0.35	30	26.0	45.2	5.0
N 52	28.5	6.05	3.92	312	15.9	25.0	50.0	0.32	30	22.0	59.2	7.3
N 53	30.0	6.24	3.54	128	15.4	18.0	47.5	0.36	30	13.0	27.6	8.7
N 54	30.0	5.97	3.18	280	10.4	29.0	90.0	0.55	30	15.5	29.0	6.7
N 55	27.0	6.07	2.86	179	16.0	22.0	55.0	0.30	30	26.0	27.6	2.7
N 56	28.0	6.20	2.66	182	9.7	20.0	87.5	0.27	30	9.0	15.8	1.4
N 57	25.5	6.51	3.33	241	3.9	22.0	40.0	0.48	30	24.5	4.0	13.2
N 58	29.0	6.24	2.92	196	9.6	20.0	56.0	0.52	30	14.0	22.0	2.1
N 59	29.0	6.31	3.13	238	9.6	27.0	45.0	0.54	30	31.5	39.2	2.3
N 60	30.5	6.02	1.92	121	13.6	14.0	47.5	0.43	30	13.0	22.0	1.1
N 61	27.5	6.18	1.78	128	8.1	14.0	70.0	0.40	30	12.0	21.4	3.3
N 62	28.0	6.20	3.26	154	7.0	13.0	15.0	0.12	30	12.0	8.0	3.7
N 63	27.0	7.07	2.83	201	0.9	25.0	37.5	0.38	30	12.0	16.4	2.6
N 64	30.0	6.07	4.24	284	13.2	23.0	81.3	0.47	30	16.0	19.4	2.1
N 65	31.0	6.67	3.18	270	2.7	23.0	66.3	0.41	30	16.0	11.0	4.4
N 66	30.0	6.18	3.63	186	11.2	25.0	23.7	0.32	30	14.0	9.4	2.5
N 67	37.5	6.44	2.31	270	3.2	21.0	43.8	0.43	30	13.0	15.2	6.5
N 68	20.5	7.27	2.83	322	0.6	7.0	67.5	0.28	30	16.0	26.4	6.2
N 69	29.5	6.65	2.87	241	1.7	27.0	40.0	0.19	30	22.5	15.2	4.1
N 70	29.0	6.66	2.68	270	2.8	25.0	50.0	0.44	30	47.0	25.0	4.1
x̄	29.1	6.35	3.10	223	8.8	22.0	56.7	0.38	30	18.8	23.0	4.51
s	2.4	0.35	0.74	62	5.5	6.0	24.5	0.11	0	0.9	13.2	2.9

Tab. 3: Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen der Urinkonzentration der untersuchten Parameter (Sammelperiode 2 der 1. Serie, Normalkollektiv)
Abkürzungen: siehe Tab. 2

DOKUMENTATIONSBOGEN FUER DIE SAMMELPERIODE VOM 010481 BIS 220481

VERSUCHSSERIE 2

MANGELKOLLEKTIV URINKONZENTRATIONEN

NR	U-VOL ml	URIN pH	CA mg/dl	P mg/dl	MG mg/dl	HARNS mg/dl	CITR mg/dl	AMPS mg/dl	G-EIW. mg/dl	ALB mg/dl	THGP NE/dl	B2-M ug/l
1.33	20.0	6.15	3.22	507	15.9	20.0	130.0	0.28	30	25.3	17.6	8.4
1.34	19.5	6.17	4.68	438	15.8	30.0	132.5	0.14	30	13.3	5.2	8.5
1.35	21.0	6.16	8.28	394	15.0	33 0	42.5	0.37	30	46.3	3.3	10.4
1.36	23.0	6.13	3.24	438	15.1	16.0	55.0	0.04	30	27.5	30.0	7.0
1.37	20.0	6.25	5.32	430	15.9	23.8	57.5	0.03	30	26.0	24.0	7.4
1.38	20.5	6.13	4.16	463	15.8	20.5	60.0	0.21	30	19.5	7.7	8.4
1.39	17.5	5.98	4.56	578	15.9	82.5	120.0	0.23	30	29.0	14.8	8.0
1.40	27.0	6.30	3.27	314	14.2	7:5	37.5	0.27	0	22.0	7.4	11.1
1.41	28.7	6.60	4.48	163	12.6	6.5	37.5	0.05	0	19.5	0.9	3 0
1.43	20.5	6.39	4.04	292	13.3	11.3	60.0	0.23	0	19.5	9.0	6.0
1.44	17.5	6.24	4.76	300	14.2	15.0	110.0	0.25	0	25.0	4.9	6.3
1.45	25.5	6.79	4.88	190	14.2	7.5	52.5	0.03	0	23.5	4.1	5.0
x̄	21.7	6.27	4.57	382	14.8	22.8	74.6	0.18	18	24.7	10.7	7.5
s	3.6	0.22	1.36	135	1.1	20.7	37.1	0.12	15	8.1	9.0	2.2

Tab. 4: Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen der Urinkonzentration der untersuchten Parameter (Sammelperiode 1 der 2. Serie, Mangelkollektiv)
Abkürzungen: siehe Tab. 2

DOKUMENTATIONSBOGEN FUER DIE SAMMELPERIODE VOM 010481 BIS 220481

VERSUCHSSERIE 2

PAIR FED KOLLEKTIV URINKONZENTRATIONEN

NR	U-VOL ml	URIN pH	CA mg/dl	P mg/dl	MG mg/dl	HARNS mg/dl	CITR mg/dl	AMPS mg/dl	G-EIW mg/dl	ALB mg/dl	THGP NE/dl	B2-M ug/l
2.51	15.5	6.10	2.98	745	14.3	19.0	85.0	0.29	30	32.0	117.0	7.8
2.52	11.5	6.03	4.52	704	14.3	73.8	130.0	0.36	30	28.5	60.0	8.6
2.53	20 0	6.24	3.63	502	14.0	10.5	62.5	0.15	30	22.0	41.2	5.8
2.54	11.5	6.05	5.20	833	14.8	45.0	130.0	0.35	30	22.0	67.0	8.1
2.55	18.5	6.01	3.37	523	14.7	9.5	39.0	0.32	0	21.0	67.0	5.8
2.56	14.0	6.27	6.12	546	14.8	33.8	85.0	0.13	100	257.5	36.0	6.6
2.57	19.8	6.16	4.80	515	14.8	38.8	52.5	0.31	0	29.0	34.8	8.1
2.58	23.0	6.40	3.59	160	12.0	5.0	20.0	0.09	0	15.5	14.4	4.6
2.59	24.5	6.24	3.42	216	14.1	7.5	37.5	0.10	0	25.0	24.4	4.5
2.60	16.0	6.38	3.48	480	14.6	18.8	87.5	0.23	0	22.0	41.2	8.4
2.61	13.5	6.36	3.65	593	15.2	18.8	87.5	0.28	30	36.0	120.0	12.8
2.62	27 5	6.08	3.54	314	14.4	25.0	25.0	0.09	0	15.0	13.0	4.2
$\bar{x}$	17.9	6 19	4.03	511	14.3	25.5	70.1	0.23	21	43.8	53.0	7.1
s	5.2	0.14	0.93	203	0.8	19.8	37.1	0.11	29	67.6	35.5	2.4

Tab. 5: Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen der Urinkonzentration der untersuchten Parameter (Sammelperiode 1 der 2. Serie, Pair-fed-Kollektiv) Abkürzungen: siehe Tab. 2

DOKUMENTATIONSBOGEN FUER DIE SAMMELPERIODE VOM 010481 BIS 220481

VERSUCHSSERIE 2

NORMALKOLLEKTIV URINKONZENTRATIONEN

NR	U-VOL	URIN	CA	P	MG	HARNS.	CITR	AMPS	G-EIW.	ALB	THGP	B2-M
	ml	pH	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	NE/dl	ug/l
3.76	20.0	6.23	3.96	575	15.5	13.8	142.5	0.43	30	34.3	79.0	10.4
3.77	19.5	6.31	3.29	568	15.6	15.8	100.0	0.49	30	22.5	67.0	6.8
3.78	23.5	6.39	3.44	300	15.2	10.0	95.0	0.30	30	23.3	56.0	5.6
3.79	26.0	6.35	3.26	339	14.7	11.3	72.5	0.24	0	11.5	23.2	6.5
3.80	17.2	6.13	3.67	473	15.2	10.5	157.5	0.28	0	25.0	38.4	9.2
3.81	25.0	6.16	2.96	445	15.4	18.8	60.0	0.40	0	18.0	36.0	8.8
3.82	30.5	6.30	5.72	325	15.1	6.0	75.0	0.15	0	16.5	22.0	7.9
3.83	26.5	6.31	2.75	484	15.2	8.8	87.5	0.48	0	35.0	34.8	50.4
3.84	23.4	6.19	4.00	388	15.3	9.5	85.0	0.40	0	27.0	28.4	21.0
3.85	23.0	6.49	3.20	344	14.5	13.8	72.5	0.33	0	15.0	36.0	9.1
3.86	19.0	6.13	3.29	605	15.1	14.0	102.5	0.20	30	35.0	41.2	11.8
3.87	19.0	6.16	2.64	550	14.8	11.3	70.0	0.38	0	19.0	42.4	30.8
x̄	22.7	6.26	3.52	450	15.1	12.0	93.3	0.34	10	23.5	42.0	15.5
s	3.9	0.11	0.81	109	0.3	3.5	29.6	0.11	15	8.0	17.2	14.4

Tab. 6: Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen der Urinkonzentration der untersuchten Parameter (Sammelperiode 1 der 2. Serie, Normalkollektiv)
Abkürzungen: siehe Tab. 2

DOKUMENTATIONSBOGEN FUER DIE SAMMELPERIODE VOM 210581 BIS 260681

VERSUCHSSERIE 2

MANGELKOLLEKTIV URINKONZENTRATIONEN

NR	U-VOL ml	URIN pH	CA mg/dl	P mg/dl	MG mg/dl	HARNS mg/dl	CITR mg/dl	AMPS mg/dl	G-EIW mg/dl	ALB mg/dl	THGP NE/dl	B2-M ug/l
1.01	20.0	6.05	7.04	301	12.7	46.8	62.5	0.32	30	19.0	6.6	9.5
1.05	20.5	6.17	10.24	297	12.3	24.4	80.0	0.36	100	140.4	8.0	11.0
1.06	21.0	6.13	9.24	323	12.6	53.2	90.0	0.31	30	38.0	7.5	13.6
1.07	21.0	6.00	3.74	288	12.4	31.6	65.0	0.27	30	16.0	6.6	9.7
1.08	20.0	5.96	3.61	319	12.7	42.8	90.0	0.21	30	20.5	8.4	10.5
1.09	20.0	5.99	3.42	445	12.8	46.8	90.0	0.22	30	20.5	11.5	10.6
1.10	12.5	5.86	3.96	367	12.9	41.8	65.0	0.22	30	10.5	9.3	19.6
1.11	21.5	5.97	4.56	402	12.8	43.0	80.0	0.28	30	33.0	11.0	32.5
1.12	21.5	6.15	3.78	323	12.9	47.1	80.0	0.26	0	7.5	6.6	23.7
1.13	20.0	6.00	5.80	463	13.3	78.5	95.0	0.37	30	25.0	7.1	27.7
1.14	13.5	6.08	4.08	345	13.5	35.4	65.0	0.26	30	22.0	9.3	21.8
1.15	21.0	5.99	3.20	288	12.6	22.8	55.0	0.21	0	11.7	8.4	12.9
$\bar{x}$	19.4	6.03	5.22	347	12.8	42.9	76.5	0.27	31	30.3	8.4	16.9
s	3.0	0.09	2.38	60	0.3	14.6	13.4	0.06	25	35.8	1.7	7.9

Tab. 7: Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen der Urinkonzentration der untersuchten Parameter (Sammelperiode 2 der 2. Serie, Mangelkollektiv)
Abkürzungen: siehe Tab. 2

DOKUMENTATIONSBOGEN FUER DIE SAMMELPERIODE VOM 210581 BIS 260681

VERSUCHSSERIE 2

PAIR FED KOLLEKTIV URINKONZENTRATIONEN

NR	U-VOL ml	URIN pH	CA mg/dl	P mg/dl	MG mg/dl	HARNS mg/dl	CITR mg/dl	AMPS mg/dl	G-EIW mg/dl	ALB mg/dl	THGP NE/dl	B2-M ug/l
2.63	19.5	6.24	1.51	611	12.3	34.4	100.0	0.31	30	32.5	42.0	8.2
2.64	22.5	6.10	1.90	454	12.5	25.3	92.5	0.47	30	25.0	33.0	5.6
2.65	18.5	5.96	1.93	611	13.0	39.7	125.0	0.51	30	5.9	35.5	6.5
2.66	19.0	5.96	1.75	537	13.1	64.6	60.0	0.44	30	11.7	29.0	7.0
2.67	27.0	6.25	1.32	524	9.4	42.3	55.0	0.37	30	11.7	24.0	5.7
2.68	18.5	5.93	2.98	524	12.9	50.6	60.0	0.52	30	25.0	55.0	7.7
2.69	23.5	6.00	1.38	550	12.5	13.7	62.5	0.39	30	7.5	46.5	4.77
2.70	18.0	5.98	1.69	598	13.2	42.0	65.0	0.37	30	9.0	60.0	9.5
2.71	18.5	6.03	1.51	550	13.3	21.0	90.0	0.46	30	9.0	42.0	8.8
2.72	20.5	5.87	1.99	567	13.7	30.4	160.0	0.31	30	38.0	42.0	9.1
2.73	20.0	6.04	2.29	611	13.4	35.4	110.0	0.46	30	5.9	42.0	9.2
2.74	17.5	5.90	1.93	620	13.4	26.6	117.5	0.37	30	7.5	33.0	8.4
x̄	20.3	6.02	1.85	563	12.7	35.5	91.5	0.42	30	15.7	40.3	7.5
s	2.8	0.12	0.45	50	1.1	13.7	32.7	0.07	0	11.3	10.3	1.6

Tab. 8: Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen der Urinkonzentration der untersuchten Parameter (Sammelperiode 2 der 2. Serie, Pair-fed-Kollektiv)
Abkürzungen: siehe Tab. 2

DOKUMENTATIONSBOGEN FUER DIE SAMMELPERIODE VOM 210581 BIS 260681

VERSUCHSSERIE 2

NORMALKOLLEKTIV URINKONZENTRATIONEN

NR	U-VOL ml	URIN pH	CA mg/dl	P mg/dl	MG mg/dl	HARNS mg/dl	CITR mg/dl	AMPS mg/dl	G-EIW mg/dl	ALB mg/dl	THGP NE/dl	B2-M ug/l
3.90	20.5	5.83	1.99	.751	13.3	95.2	202.5	0.36	30	15.0	31.0	11.2
3.91	21.0	5.85	2.51	.550	13.7	62.5	177.5	0.62	30	9.0	26.0	9.6
3.92	18.0	5.99	2.46	.637	13.7	91.1	105.0	0.42	30	10.5	31.0	10.6
3.93	19.5	6.11	1.21	.655	7.5	30.4	72.5	0.46	30	52.5	35.5	10.2
3.94	17.5	5.95	1.93	.663	9.4	111.9	157.5	0.30	30	9.0	26.0	12.5
3.95	24.0	5.98	1.73	.585	9.3	32.9	142.5	0.61	30	25.0	35.5	9.7
3.96	20.0	5.94	1.71	.598	9.0	22.8	166.0	0.34	30	26.5	40.0	5.9
3.97	21.0	6.01	1.49	.550	8.6	21.5	107.5	0.42	30	16.0	33.0	6.7
3.98	24.5	5.97	2.03	.493	9.0	22.8	147.5	0.30	30	51.5	31.0	7.6
3.99	17.5	6.02	1.49	.567	8.8	42.0	90.0	0.43	30	9.0	40.0	8.5
3100	16.0	5.96	1.99	.633	9.3	136.0	140.0	0.38	30	9.0	37.5	7.1
3101	20.5	5.99	2.33	.519	8.7	43.0	117.5	0.43	30	7.5	37.5	6.5
$\bar{x}$	20.0	5.97	1.91	.600	10.0	56.0	135.4	0.42	30	20.0	33.7	8.8
s	2.6	0.07	0.40	72	2.2	37.8	36.5	0.10	0	16.2	4.8	2.1

Tab. 9: Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen der Urinkonzentration der untersuchten Parameter (Sammelperiode 2 der 2. Serie, Normalkollektiv) Abkürzungen: siehe Tab. 2

DOKUMENTATIONSBOGEN FUER DIE SAMMELPERIODE VOM 010481 BIS 220481

VERSUCHSSERIE 2

MANGELKOLLEKTIV ACHT-STUNDEN-AUSSCHEIDUNG IM URIN

NR	U-VOL ml/8h	URIN pH	CA mg/8h	P mg/8h	MG mg/8h	HARNS mg/8h	CITR mg/8h	AMPS ug/8h	G-EIW mg/8h	ALB mg/8h	THGP NE/8h	B2-M ug/8h
1.33.1.8	.6.15	.0.06	.10.6	.0.29	.0.36	.2.3	.5.04	.0.5	.0.46	.0.32	.0.02	
1.34.2.0	.6.17	.0.09	. 8.8	.0.32	.0.60	.2.7	.2.80	.0.6	.0.27	.0.10	.0.02	
1.35.2.1	.6.16	.0.17	. 8.3	.0.31	.0.69	.0.9	.7.77	.0.6	.0.97	.0.07	.0.02	
1.36.2.3	.6.13	.0.08	.10.1	.0.35	.0.37	.1.3	.0.92	.0.7	.0.63	.0.69	.0.02	
1.37.2.0	.6.25	.0.11	. 8.6	.0.32	.0.48	.1.2	.0.60	.0.6	.0.52	.0.48	.0.02	
1.38.2.1	.6.13	.0.09	. 9.7	.0.33	.0.43	.1.3	.4.41	.0.6	.0.41	.0.16	.0.02	
1.39.1.8	.5.98	.0.08	.10.4	.0.29	.1.49	.2.2	.4.14	.0.5	.0.52	.0.27	.0.02	
1.40.2.7	.6.30	.0.09	. 8.5	.0.38	.0.20	.1.0	.7.29	.0.0	.0.59	.0.20	.0.03	
1.41.4.8	.6.60	.0.22	. 7.8	.0.60	.0.31	.1.8	.2.40	.0.0	.0.94	.0.04	.0.01	
1.43.2.1	.6.39	.0.09	. 6.1	.0.28	.0.24	.1.3	.4.85	.0.0	.0.41	.0.19	.0.01	
1.44.1.8	.6.24	.0.09	. 5.4	.0.26	.0.27	.2.0	.4.50	.0.0	.0.45	.0.09	.0.01	
1.45.3.2	.6.79	.0.16	. 6.1	.0.45	.0.24	.1.7	.0.96	.0.0	.0.75	.0.13	.0.02	
$\bar{x}$ .2.4	.6.27	.0.11	. 8.4	.0.35	.0.47	.1.6	.3.81	.0.4	.0.58	.0.23	.0.02	
s .0.9	.0.22	.0.05	. 1.7	.0.10	.0.35	.0.6	.2.36	.0.31	.0.21	.0.19	.0.01	

Tab. 10: Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen der Acht-Stunden-Ausscheidung der untersuchten Parameter (Sammelperiode 1 der 2. Serie, Mangelkollektiv)
Abkürzungen: U-VOL: Urinvolumen pro 8 h; CA: Kalzium; P: Phosphor; MG: Magnesium; HARNS: Harnsäure; CITR: Zitrat; AMPS: saure Mukopolysaccharide; G-EIW: Gesamt-Eiweiß; ALB: Albumin; THGP: Tamm-Horsfall-Glykoprotein = Uromukoid; B2-M: $ß_2$-Mikroglobulin

DOKUMENTATIONSBOGEN FUER DIE SAMMELPERIODE VOM 010481 BIS 220481

VERSUCHSSERIE 2

PAIR FED KOLLEKTIV ACHT-STUNDEN-AUSSCHEIDUNG IM URIN

NR	U-VOL. ml/8h.	URIN pH	CA mg/8h.	P mg/8h.	MG mg/8h.	HARNS. mg/8h.	CITR mg/8h.	AMPS ug/8h.	G-EIW. mg/8h.	ALB mg/8h.	THGP NE/8h.	B2-M ug/8h.
2.51	1.6	6.10	0.05	11.9	0.23	0.30	1.4	4.64	0.5	0.51	1.87	0.01
2.52	1.2	6.03	0.05	8.4	0.17	0.89	1.6	4.32	0.4	0.34	0.72	0.01
2.53	2.0	6.24	0.07	10.0	0.28	0.21	1.3	3.00	0.6	0.44	0.82	0.01
2.54	1.2	6.05	0.06	10.0	0.18	0.54	1.6	4.20	0.4	0.26	0.80	0.01
2.55	1.9	6.01	0.06	9.9	0.28	0.18	0.7	6.08	0.0	0.40	1.27	0.01
2.56	1.6	6.27	0.10	8.7	0.24	0.54	1.4	2.08	1.6	4.12	0.58	0.01
2.57	2.0	6.16	0.10	10.3	0.30	0.78	1.1	6.20	0.0	0.58	0.70	0.02
2.58	2.3	6.40	0.08	3.7	0.28	0.12	0.5	2.07	0.0	0.36	0.33	0.01
2.59	2.5	6.24	0.09	5.4	0.35	0.13	0.9	2.50	0.0	0.63	0.61	0.01
2.60	1.6	6.38	0.06	7.7	0.23	0.12	1.4	3.68	0.0	0.35	0.66	0.01
2.61	1.4	6.36	0.05	8.3	0.21	0.26	1.2	3.92	0.5	0.50	1.68q	0.02
2.62	2.8	6.08	0.10	8.8	0.40	0.53	0.7	2.52	0.0	0.42	0.36	0.01
x̄	1.8	6.19	0.07	8.6	0.26	0.38	1.2	3.77	0.3	0.74	0.87	0.01
s	0.5	0.14	0.02	2.1	0.07	0.26	0.4	1.42	0.5	1.07	0.49	0.002

Tab. 11: Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen der Acht-Stunden-Ausscheidung der untersuchten Parameter (Sammelperiode 1 der 2. Serie, Pair-fed-Kollektiv)
Abkürzungen: siehe Tab. 10

DOKUMENTATIONSBOGEN FUER DIE SAMMELPERIODE VOM 010481 BIS 220481

VERSUCHSSERIE 2

NORMALKOLLEKTIV ACHT-STUNDEN-AUSSCHEIDUNG IM URIN

NR	U-VOL. ml/8h	URIN pH	CA mg/8h	P mg/8h	MG mg/8h	HARNS mg/8h	CITR mg/8h	AMPS ug/8h	G-EIW mg/8h	ALB mg/8h	THGP NE/8h	B2-M ug/8h
3.76	2.2	6.23	0.09	12.7	0.34	0.30	3.1	9.46	0.7	0.75	1.74	0.02
3.77	2.01	6.31	0.07	11.4	0.31	0.32	2.0	9.80	0.6	0.46	1.34	0.01
3.78	2.4	6.39	0.08	7.2	0.37	0.24	2.3	7.20	0.7	0.56	1.34	0.01
3.79	2.6	6.35	0.09	8.8	0.38	0.29	1.9	6.24	0.0	0.30	0.60	0.02
3.80	1.7	6.13	0.06	8.0	0.26	0.18	2.7	4.76	0.0	0.43	0.65	0.02
3.81	2.5	6.16	0.07	11.1	0.39	0.47	1.5	10.00	0.0	0.46	0.90	0.02
3.82	3.4	6.30	0.19	11.1	0.51	0.20	2.6	5.10	0.0	0.56	0.75	0.02
3.83	2.9	6.31	0.08	14.0	0.44	0.26	2.5	13.92	0.0	1.02	1.01	0.15
3.84	2.3	6.19	0.09	8.9	0.35	0.22	2.0	9.20	0.0	0.62	0.65	0.05
3.85	2.3	6.49	0.07	7.9	0.33	0.32	1.7	7.59	0.0	0.35	0.83	0.02
3.86	1.9	6.13	0.06	11.5	0.29	0.27	2.0	3.80	0.6	0.67	0.78	0.02
3.87	1.9	6.16	0.05	10.5	0.28	0.21	1.3	7.22	0.0	0.36	0.81	0.07
$\bar{x}$	2.3	6.26	0.08	10.3	0.35	0.27	2.1	7.86	0.2	0.55	0.95	0.04
s	0.5	0.11	0.04	2.0	0.07	0.07	0.5	2.81	0.3	0.20	0.35	0.04

Tab. 12: Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen der Acht-Stunden-Ausscheidung der untersuchten Parameter (Sammelperiode 1 der 2. Serie, Normalkollektiv)
Abkürzungen: siehe Tab. 10

DOKUMENTATIONSBOGEN FUER DIE SAMMELPERIODE VOM 210581 BIS 260681

VERSUCHSSERIE 2

MANGELKOLLEKTIV ACHT-STUNDEN-AUSSCHEIDUNG IM URIN

NR	U-VOL. ml/8h.	URIN pH	CA mg/8h.	P mg/8h.	MG mg/8h.	HARNS. mg/8h.	CITR mg/8h.	AMPS ug/8h.	G-EIW. mg/8h.	ALB mg/8h.	THGP NE/8h.	B2-M ug/8h.
1.01.2.0	.6.05	.0.14	6.0	.0.25	.0.94	.1.3	.6.40	.0.6	.0.38	.0.13	.0.02
1.05.2.3	.6.17	.0.24	6.8	.0.28	.0.56	.1.8	.8.28	.2.3	.3.23	.0.18	.0.03
1.06.2.3	.6.13	.0.21	7.4	.0.29	.1.22	.2.1	.7.13	.0.7	.0.87	.0.17	.0.03
1.07.2.3	.6.00	.0.09	6.6	.0.28	.0.73	.1.5	.6.21	.0.7	.0.37	.0.15	.0.02
1.08.1.8	.5.96	.0.07	5.7	.0.23	.0.77	.1.6	.3.78	.0.5	.0.37	.0.15	.0.02
1.09.1.8	.5.99	.0.06	8.0	.0.23	.0.84	.1.6	.3.96	.0.5	.0.37	.0.21	.0.02
1.10.1.8	.5.86	.0.07	6.6	.0.23	.0.75	.1.2	.3.96	.0.5	.0.19	.0.17	.0.04
1.11.2.2	.5.97	.0.10	8.8	.0.28	.0.95	.1.8	.6.16	.0.7	.0.73	.0.24	.0.07
1.12.2.7	.6.15	.0.10	8.7	.0.35	.1.27	.2.2	.7.02	.0.0	.0.20	.0.18	.0.06
1.13.2.5	.6.00	.0.15	11.6	.0.33	.1.96	.2.4	.9.25	.0.8	.0.63	.0.18	.0.07
1.14.1.9	.6.08	.0.08	6.6	.0.26	.0.67	.1.2	.4.94	.0.6	.0.42	.0.18	.0.04
1.15.2.1	.5.99	.0.07	6.1	.0.26	.0.48	.1.2	.4.41	.0.0	.0.25	.0.18	.0.03
$\bar{x}$	.2.1	.6.03	.0.12	7.4	.0.27	.0.93	.1.7	.5.96	.0.7	.0.67	.0.18	.0.04
s	.0.3	.0.09	.0.06	1.7	.0.04	.0.40	.0.4	.1.79	.0.6	.0.83	.0.03	.0.02

Tab. 13: Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen der Acht-Stunden-Ausscheidung der untersuchten Parameter (Sammelperiode 2 der 2. Serie, Mangelkollektiv)
Abkürzungen: siehe Tab. 10

DOKUMENTATIONSBOGEN FUER DIE SAMMELPERIODE VOM 210581 BIS 260681

VERSUCHSSERIE 2

PAIR FED KOLLEKTIV ACHT-STUNDEN-AUSSCHEIDUNG IM URIN

NR	U-VOL. ml/8h	URIN pH	CA mg/8h	P mg/8h	MG mg/8h	HARNS. mg/8h	CITR mg/8h	AMPS ug/8h	G-EIW. mg/8h	ALB mg/8h	THGP NE/8h	B2-M ug/8h
2.63.2.8	6.24	0.04	17.1	0.34	0.96	2.8	8.68	0.8	0.91	1.18	0.02
2.64.3.2	6.10	0.06	14.5	0.40	0.81	3.0	15.04	1.0	0.80	1.06	0.02
2.65.2.6	5.96	0.05	15.9	0.34	1.03	3.3	13.26	0.8	0.15	0.92	0.02
2.66.2.7	5.96	0.05	14.5	0.35	1.74	1.6	11.88	0.8	0.32	0.78	0.02
2.67.3.9	6.25	0.05	20.4	0.37	1.65	2.2	14.43	1.2	0.46	0.94	0.02
2.68.2.6	5.93	0.08	13.6	0.33	1.32	1.6	13.52	0.8	0.65	1.43	0.02
2.69.3.4	6.00	0.05	18.7	0.42	0.47	2.1	13.26	1.0	0.26	1.58	0.02
2.70.2.6	5.98	0.04	15.5	0.34	1.09	1.7	9.62	0.8	0.23	1.56	0.03
2.71.2.6	6.03	0.04	14.3	0.34	0.55	2.3	11.96	0.8	0.23	1.09	0.02
2.72.2.9	5.87	0.06	16.4	0.40	0.88	4.6	8.99	0.9	1.10	1.22	0.03
2.73.2.9	6.04	0.07	17.7	0.39	1.03	3.2	13.34	0.9	0.17	1.22	0.03
2.74.2.5	5.90	0.05	15.5	0.34	0.67	2.9	9.25	0.8	0.19	0.83	0.02
$\bar{x}$ 2.9	6.02	0.05	16.2	0.36	1.02	2.6	11.94	0.9	0.46	1.15	0.02
s 0.4	0.12	0.01	2.0	0.03	0.40	0.9	2.25	0.1	0.33	0.27	0.004

Tab. 14: Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen der Acht-Stunden-Ausscheidung der untersuchten Parameter (Sammelperiode 2 der 2. Serie, Pair-fed-Kollektiv)
Abkürzungen: siehe Tab. 10

DOKUMENTATIONSBOGEN FUER DIE SAMMELPERIODE VOM 210581 BIS 260681

VERSUCHSSERIE 2

NORMALKOLLEKTIV ACHT-STUNDEN-AUSSCHEIDUNG IM URIN

NR	U-VOL. ml/8h	URIN pH	CA mg/8h	P mg/8h	MG mg/8h	HARNS. mg/8h	CITR mg/8h	AMPS ug/8h	G-EIW. mg/8h	ALB mg/8h	THGP NE/8h	B2-M ug/8h
390	2.9	5.83	0.06	21.8	0.39	1.60	5.9	10.44	0.9	0.44	0.90	0.03
391	3.0	5.85	0.07	16.5	0.41	1.88	5.3	18.60	0.9	0.27	0.78	0.03
392	2.6	5.99	0.06	16.6	0.36	2.37	2.7	10.92	0.8	0.27	0.81	0.03
393	2.8	6.11	0.03	18.3	0.21	0.85	2.0	12.88	0.8	1.47	0.99	0.03
394	2.5	5.95	0.05	16.6	0.23	2.80	3.9	7.50	0.8	0.23	0.65	0.03
395	3.4	5.98	0.06	19.9	0.32	1.12	4.9	20.74	1.0	0.85	1.21	0.03
396	2.9	5.94	0.05	17.3	0.26	0.66	3.2	9.86	0.9	0.77	1.16	0.02
397	3.0	6.01	0.04	16.5	0.26	0.65	3.2	12.60	0.9	0.48	0.99	0.02
398	3.5	5.97	0.07	17.3	0.32	0.80	5.2	10.50	1.1	1.80	1.09	0.03
399	2.5	6.02	0.04	14.2	0.22	1.05	2.3	10.75	0.8	0.23	1.00	0.02
3100	2.3	5.96	0.05	14.6	0.21	3.13	3.2	8.74	0.7	0.21	0.86	0.02
3101	2.9	5.99	0.07	15.1	0.25	1.25	3.4	12.47	0.9	0.22	1.09	0.02
$\bar{x}$	2.9	5.97	0.05	17.1	0.29	1.51	3.9	12.17	0.9	0.60	0.96	0.03
s	0.4	0.07	0.01	2.2	0.07	0.85	1.3	3.86	0.1	0.53	0.17	0.01

Tab. 15: Einzelwerte, Mittelwerte und Standardabweichungen der Acht-Stunden-Ausscheidung der untersuchten Parameter (Sammelperiode 2 der 2. Serie, Normalkollektiv)
Abkürzungen: siehe Tab. 10

VERSUCHSSERIE 2

SAMMELPERIODE 01.04.-22.04.81
URINKONZENTRATIONEN

PARAMETER / EINHEIT	MANGELKOLL. $\bar{x}$	PAIRF.KOLL. $\bar{x}$	NORMALKOLL. $\bar{x}$
URIN-pH- / WERT	6.27	6.19	6.26
KALZIUM / mg/dl	4.57 a_n=0.02	4.03	3.52
PHOSPHOR / mg/dl	382	511	450
MAGNESIUM / mg/dl	14.8	14.3 a_n=0.002	15.1
HARNSAEURE / mg/dl	22.8	25.0	12.0
ZITRAT / mg/dl	74.6	70.1	93.3
AMPS / mg/dl	0.18 a_n=0.01	0.23 a_n=0.05	0.34
ALBUMIN / mg/dl	24.7	24.4	23.5
UROMUKOID / NE/dl	10.7 a_n=0.002 a_p=0.002	53.0	42.0
B2-MIKROGL. / µg/l	7.5	7.1	9.7

Tab. 16: Mittelwert- und Signifikanztabelle der Urinkonzentration der untersuchten Parameter (Sammelperiode 1 der 2. Serie)

a_n = Irrtumswahrscheinlichkeit der Signifikanz (Unterschied des betreffenden Kollektivs gegenüber dem Normalkollektiv)

a_p = Irrtumswahrscheinlichkeit der Signifikanz (Unterschied des betreffenden Kollektivs gegenüber dem Pair-fed-Kollektiv)

VERSUCHSSERIE 2

SAMMELPERIODE 21.05.-26.06.81
URINKONZENTRATIONEN

PARAMETER / EINHEIT	MANGELKOLL. $\bar{x}$	PAIRF.KOLL. $\bar{x}$	NORMALKOLL. $\bar{x}$
URIN-pH- WERT	6.03	6.02	5.97
KALZIUM mg/dl	5.22 a_n=0.002 a_p=0.002	1.85	1.91
PHOSPHOR mg/dl	347 a_n=0.002 a_p=0.002	563	600
MAGNESIUM mg/dl	12.8 a_n=0.05	12.7 a_n=0.05	10.0
HARNSAEURE mg/dl	42.9	35.5	56.0
ZITRAT mg/dl	76.5 a_n=0.002	91.5 a_n=0.02	135.4
AMPS mg/dl	0.27 a_n=0.002 a_p=0.002	0.42	0.42
ALBUMIN mg/dl	20.3	15.7	13.7
UROMUKOID NE/dl	8.4 a_n=0.002 a_p=0.002	40.3	33.7
B2-MIKROGL. µg/l	16.9 a_n=0.002 a_p=0.002	7.5	8.8

Tab. 17: Mittelwert- und Signifikanztabelle der Urinkonzentration der untersuchten Parameter (Sammelperiode 2 der 2. Serie)

a_n = Irrtumswahrscheinlichkeit der Signifikanz (Unterschied des betreffenden Kollektivs gegenüber dem Normalkollektiv)

a_p = Irrtumswahrscheinlichkeit der Signifikanz (Unterschied des betreffenden Kollektivs gegenüber dem Pair-fed-Kollektiv)

VERSUCHSSERIE 2

SAMMELPERIODE 01.04.-22.04.81
ACHT-STUNDEN-AUSSCHEIDUNGEN

-PARAMETER -EINHEIT	- MANGELKOLL. - $\bar{x}$	- PAIRF.KOLL. - $\bar{x}$	- NORMALKOLL. - $\bar{x}$
-8h-AUSSCH. -ml/8h	- 2.4 -	- 1.8 a_n=0.05 -	- 2.3 -
-KALZIUM -mg/8h	- 0.11 a_n=0.05 - a_p=0.05	- 0.07 -	- 0.08 -
-PHOSPHOR -mg/8h	- 8.4 a_n=0.05 -	- 8.8 -	- 10.3 -
-MAGNESIUM -mg/8h	- 0.35 a_p=0.02 -	- 0.26 a_n=0.01 -	- 0.35 -
-HARNSAEURE -mg/8h	- 0.47 -	- 0.38 -	- 0.27 -
-ZITRAT -mg/8h	- 1.6 -	- 1.2 a_n=0.002 -	- 2.1 -
-AMPS -µg/8h	- 3.81 a_n=0.002 -	- 3.77 a_n=0.002 -	- 7.86 -
-ALBUMIN -mg/8h	- 0.58 -	- 0.44 a_n=0.05 -	- 0.55 -
-UROMUKOID -NE/8h	- 0.23 a_n=0.002 - a_p=0.002	- 0.87 a_n=0.02 -	- 0.95 -
-B2-MIKROGL. -µg/8h	- 0.02 a_p=0.01 -	- 0.01 a_n=0.01 -	- 0.02 -

Tab. 18: Mittelwert- und Signifikanztabelle der 8 h - Ausscheidung der untersuchten Parameter (Sammelperiode 1 der 2. Serie)

a_n = Irrtumswahrscheinlichkeit der Signifikanz (Unterschied des betreffenden Kollektivs gegenüber dem Normalkollektiv)

a_p = Irrtumswahrscheinlichkeit der Signifikanz (Unterschied des betreffenden Kollektivs gegenüber dem Pair-fed-Kollektiv)

VERSUCHSSERIE 2

SAMMELPERIODE 21.05.-26.06.81
ACHT-STUNDEN-AUSSCHEIDUNGEN

-PARAMETER -EINHEIT	- MANGELKOLL. - $\bar{x}$	- PAIRF.KOLL. - $\bar{x}$	- NORMALKOLL. - $\bar{x}$
-8h-AUSSCH. -ml/8h	- 2.1 a_n=0.002 - a_p=0.002	- 2.9 -	- 2.9 -
-KALZIUM -mg/8h	- 0.12 a_n=0.002 - a_p=0.002	- 0.05 -	- 0.05 -
-PHOSPHOR -mg/8h	- 7.4 a_n=0.002 - a_p=0.002	- 16.2 -	- 17.1 -
-MAGNESIUM -mg/8h	- 0.27 a_p=0.002 -	- 0.36 a_n=0.01 -	- 0.29 -
-HARNSAEURE -mg/8h	- 0.93 -	- 1.02 -	- 1.51 -
-ZITRAT -mg/8h	- 1.7 a_n=0.002 - a_p=0.01	- 2.6 a_n=0.02 -	- 3.9 -
-AMPS -µg/8h	- 5.96 a_n=0.002 - a_p=0.002	- 11.94 -	- 12.17 -
-ALBUMIN -mg/8h	- 0.43 -	- 0.46 -	- 0.40 -
-UROMUKOID -NE/8h	- 0.18 a_n=0.002 - a_p=0.002	- 1.15 -	- 0.96 -
-B2-MIKROGL. -µg/8h	- 0.04 a_p=0.02 -	- 0.02 -	- 0.03 -

Tab. 19: Mittelwert- und Signifikanztabelle der 8 h - Ausscheidung der untersuchten Parameter (Sammelperiode 2 der 2. Serie)

a_n = Irrtumswahrscheinlichkeit der Signifikanz (Unterschied des betreffenden Kollektivs gegenüber dem Normalkollektiv)

a_p = Irrtumswahrscheinlichkeit der Signifikanz (Unterschied des betreffenden Kollektivs gegenüber dem Pair-fed-Kollektiv)

Tier Nr.	Vitamin A - Gehalt pro Leber in IE
Mangelkollektiv	
1.17	6,41
1.18	2,07
1.19	7,57
1.22	3,43
1.23	11,21
1.24	14,67
1.26	0,00
1.28	0,00
1.29	0,00
1.30	0,00
1.32	0,00
1.33	6,25
1.34	0,00
1.35	0,00
1.37	0,00
Pair-fed-Kollektiv	
2.51	6719,01
2.52	4597,80
2.53	5849,48
Normalkollektiv	
3.76	5315,10
3.77	5617,55
3.78	4800,42

Tab. 20: Vitamin A-Gehalt (Retinol und 13-cis-Vitamin A) der Lebern aus Versuchsserie 2. Angegeben ist der Gehalt in internationalen Einheiten (IE) pro Leber

Alter d. Ratten i. Wochen	Körpergewicht der Ratten in Gramm ($\bar{x}$) Mangelkoll.	Pair-fed-K.	Normalkoll.
9	119,3	129,4	156,2
10	147,3	155,1	192,6
11	170,5	187,3	221,3
12	187,6	204,7	250,7
13	194,6	217,3	274,3
14	201,1	240,4	297,0
15	209,7	262,4	318,2
16	212,9	288,2	332,0
17	220,9	306,0	348,8
18	224,5	315,1	357,5
19	228,4	324,6	268,2
20	236,5	340,4	378,4
21	238,9	342,1	376,5
22	239,1	347,6	378,8
23	238,9	357,3	385,7
24	243,6	371,7	400,2
25	262,4	378,5	408,9
26	263,8	388,3	401,3

Tab. 21: Körpergewichtsentwicklung in Versuchsserie 2. Angegeben sind die Mittelwerte ($\bar{x}$) der Kollektive in wöchentlichen Abständen

Mangelkollektiv

Tier Nr.	17	18	19	22	23	24	26	28	29
Zahl d. Mikrol.	11	10	0	5	11	24	10	8	3
Tier Nr.	30	32	33	34	35	37			
Zahl d. Mikrol.	11	12	13	1	13	13			

Pair-fed-Kollektiv

Tier Nr.	51	52	53
Zahl d. Mikrol.	3	11	11

Normalkollektiv

Tier Nr.	76	77	78
Zahl d. Mikrol.	17	4	20

Tab. 22: Zahl der in den Tubuli gelegenen Mikrolithen pro Meßfeld (siehe 3.15)

8 LITERATURVERZEICHNIS

1 AGUS, Z.S., P.J.S. CHIU, M. GOLDBERG
Regulation of urinary calcium excretion in the rat
Am. J. Physiol. 232: F 545 - F 549, 1977

2 ALKEN, C.E., J. SÖKELAND
Urologie (8. Auflage)
G. Thieme Verlag, Stuttgart: 1979

3 ALMEIDA, A.L.J., L.H. KUDO, A.S. ROCHA
Calcium transport in isolated perfused pars recta of proximal tubule
Abstr. 7th Int. Congr. of Nephrology: E-16, 1978

4 ALTWEIN, J.E.
Urologie (1. Auflage)
F. Enke Verlag, Stuttgart: 1979

5 ARBEITSGRUPPE "STATISTIK IN DER WASSERANALYTIK" IN DER FACHGRUPPE WASSERCHEMIE
Anwendung statistischer Methoden zur Beurteilung von Analysenergebnissen in der Wasseranalytik
In: Deutsche Einheitsverfahren (8. Lieferung)
Verlag Chemie Weinheim, New York: 1979

6 BACKMAN, U.
Tubular defects in patients forming calcium-containing stones
Eur. Urol. 4: 50 - 56, 1978

7 BECKER, W.
Methoden der qualitativen und quantitativen Immunelektrophorese
Hrsg. von Behringwerke AG, Marburg/Lahn: 1973

8 BECKER, W., W. RAPP, H.G. SCHWICK, K. STÖRIKO
Methoden zur quantitativen Bestimmung von Plasmaproteinen durch Immunpräzipitation
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 6: 113 - 122, 1968

9 BICHLER, K.H.
Immundiagnostik der Proteinurie
Laboratoriumsblätter 25: 63 - 69, 1975

10 BICHLER, K.H., H. HAUPT, C. KIRCHNER, D. WAGNER
Uromucoid excretion by normal individuals and stone formers
In: PETERS, H. (Ed.)
Prot. Biol. Fluids
Pergamon Press, Oxford, New York 21: 537 - 540, 1973

11 BICHLER, K.H., H. HAUPT, G. UHLEMANN, H.G. SCHWICK
Human uromucoid, I. Quantitative immunoassay
Urol. res. 1: 50 - 59, 1973

12 BICHLER, K.H., C. KIRCHNER
Immunhistologische Darstellung von Uromukoid in der Niere des Menschen und der Ratte
Urologe 14: 246 - 249, 1975

13 BICHLER, K.H., C. KIRCHNER, V. IDELER
Uromucoid excretion of normal individuals and stone formers
Brit. J. Urol. 47: 733 - 737, 1976

14 BICHLER, K.H., S. KORN, I. LAEMMERT
Beta-2-Mikroglobulinausscheidung bei Patienten mit Urolithiasis
In: VAHLENSIECK, W., G. GASSER (Hrsg.)
Pathogenese und Klinik der Harnsteine VIII
Steinkopff Verlag, Darmstadt: 1981, pp. 80 - 82

15 BICHLER, K.H., J. SALLIS, S. BROERING
Observations on urinary glycosaminoglycan concentration in relation to the type of calculus, its tissue location and in tissue tumors
In: BROCKIS, J.G., B. FINLAYSON (Ed.)
Urinary Calculus
PSG Publishing Company, Inc., Littleton : 1981, pp. 335 - 340

16 BICHLER, K.H., D. WAGNER
Quantitative Uromukoidbestimmung bei Steinpatienten
Verhandlungsbericht der deutschen Gesellschaft für Urologie, 25. Tagung, 1973
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg: 1974, pp. 282 - 283

17 BISAZ, S., R. FELIX, W.F. NEUMANN, H. FLEISCH
Quantitative determination of inhibitors of calcium phosphate precipitation in whole urine
Min. Electr. Metab. 1: 74 - 83, 1978

18 BLAUSTEIN, M.P.
The interrelationship between sodium and calcium fluxes across cell membranes
Rev.Physiol.Biochem.Pharmacol. 70: 33 - 82, 1974

19 BLISS, A.R.jr., G.R. LIVERMORE, E.O. PRATHER jr.
The relation of vitamin A and vitamin D to urinary calculus formation
J. Urol. 30: 639 - 652, 1933

20 BLUMENKRANTZ, N., G. ASBOE-HANSEN
New method for quantitative determination of uronic acids
Analyt. Biochem. 54: 484 - 489, 1973

21 BOCK, E., N.H. AXELSEN
Comparison of antigens: the reaction of partial identity
In: AXELSEN, N.H., J. KRØLL, B. WEEKE (Ed.)
Quantitative immunoelectrophoresis
Universitetsforlaget Oslo, Bergen, Tromsø: 1973, pp. 95 - 99

22 BOESKEN, W.H., R. KLUTHE, H. MÜLLER, P. SCHOLLMEYER
Zur Pathogenese und Klinik der Proteinurie
Nieren- und Hochdruckkrankheiten 1: 183 - 187, 1973

23 BOGUTH, H., H. WEISER
persönliche Mitteilung

24 BONANNI, F., S.S. LEVINSON, G. WOLF, L. DE LUCA
Glycoproteins from hamster respiratory tract and their response to vitamine A
Biochim. Biophys. Acta 297: 441 - 451, 1973

25 BONJOUR, J.P., J. CAVERSAZIO, H. FLEISCH, R. MÜHLBAUER, U. TROEHLER
Renal handling of phosphate
Contr. Nephr. 23: 11 - 20, 1980

26 BOUDRY, J.F., U. TROEHLER, M. TOUABI, H. FLEISCH, J.P. BONJOUR
Secretion of inorganic phosphate in the rat nephron
Clin. Sci. mol. Med. 48: 475 - 489, 1975

27 BOURRILLON, R.
Glycoproteins, glycopeptides and other carbohydrate complexes of normal human urine
In: MANUEL, Y., J.P. REVEILLARD, H. BETUEL (Ed.)
Proteins in normal and pathological urine
S. Karger Verlag, Basel, New York: 1970, pp. 20 - 44

28 BOYCE, W.H., F.K. GARVEY
Amount and nature of the organic matrix in urinary calculi. A review
J. Urol. 76: 213 - 227, 1956

29 BOYCE, W.H., F.K. GARVEY, C.M. NORFLEET
Ion-binding properties of electrophoretically homogeneous mucoproteins of urine in normal subjects and in patients with renal calculus disease
J. Urol 72: 1019 - 1031, 1954

30 BOYCE, W.H., J.S. KING, M.L. FIELDEN
Total nondialysable solids in human urine
IX. Immunochemical studies of the R_f - 1 "uromucoid" fraction
J. Clin. Invest. 40: 1453 - 1465, 1961

31 BOYCE, W.H., M. SWANSON
Biocolloids of urine in health and in calculus disease. II. Electrophoretic and biochemical studies of a mucoprotein insoluble in molar sodium chloride
J. Clin. Invest. 34: 1581 - 1589, 1955

32 BROWN, D.M., A.F. MICHAEL, T.R. OEGEMA
Glycosaminoglycan synthesis by glomeruli in vivo and in vitro
Biochim. Biophys. Acta 674: 96 - 104, 1981

33 BRUBACHER, G.
In Vorbereitung

34 BRUBACHER, G., J.P. VUILLEUMIER
Vitamin A
In: CURTIUS, H.CH., M. ROTH (Ed.)
Clinical biochemistry, principles and methods
Vol. II
W. de Gruyter Verlag, Berlin, New York: 1974, pp. 975 - 982

35 BRUNETTE, M.G., M. CHAN, C. FERRIERE, K.D. ROBERTS
Site of 1,25 $(OH)_2$ vitamin D_3 synthesis in the kidney
Nature 276: 287 - 289, 1978

36 BUDDECKE, E.
Grundriß der Biochemie (5. Auflage)
W. de Gruyter Verlag, Berlin, New York: 1977

37 CHASE, L.R., G.D. AURBACH
Cyclic AMP and the mechanism of action of parathyroid hormone
In: TALMAGE, BELANGER, CLARK (Ed.)
Parathyroid hormone and thyrocalcitonin (calcitonin)
Excerpta Medica, Amsterdam: 1968, pp. 247 - 257

38 CHI ROSSO, G., S. MASUSHIGE, H. QUILL, G. WOLF
Transfer of mannose from mannosyl retinyl phosphate to protein
Proc. Natl. Acad. Sci. USA 74: 3762 - 3766, 1977

39 CORNELIUS, C.E., J.A. BISHOP
Amino acid composition of Tamm-Horsfall urinary mucoprotein in sheep
Am. J. Vet. Res. 28: 883 - 885, 1967

40 CRAWFORD, M.A., M.D. MILNE, B.H. SCRIBNER
The effects of changes in acid-base balance on urinary citrate in the rat
J. Physiol. 149: 413 - 423, 1959

41 CREEK, K.E., D.J. MORRÉ
Effects of retinol and retinol palmitate on glycolipid and glycoprotein galactosyltransferase activities of rat liver plasma membranes
Biochem. Biophys. Res. Comm. 95: 1775 - 1780, 1980

42 DAVIS, B.B., L.H. KEDES, J.B. FIELD
Demonstration of distal tubular flux of phosphorus using modified stop-flow analysis
Metabolism 15: 482 - 491, 1966

43 DEETJEN, P.
Niere und ableitende Harnwege, physiologische Grundlagen
In: SIEGENTHALER, W. (Hrsg.)
Klinische Pathophysiologie (4. Auflage)
G. Thieme Verlag, Stuttgart: 1979, pp. 335 - 358

44 DEETJEN, P.
Physiologie der Niere und des Salz-Wasserhaushaltes
In: HOHENFELLNER, R., E.J. ZINGG (Hrsg.)
Urologie in Klinik und Praxis, Bd. I
G. Thieme Verlag, Stuttgart: 1982, pp. 30 - 45

45 DESMARS, J.F., R. TAWASHI
Dissolution and growth of calcium oxalate monohydrate, effect of magnesium and pH
Biochim. Biophys. Acta 313: 256 - 267, 1973

46 DEUTSCHE FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT
Schwangerschaftsverlauf und Kindsentwicklung
Harald Boldt Verlag KG, Boppard: 1977

47 DOCUMENTA GEIGY
Wissenschaftliche Tabellen (7. Ausgabe)
G. Thieme Verlag, Stuttgart: 1975

48 DULCE, H.J.
Über die Harnkolloide
Urol. Internat. 7: 65 - 73, 1958

49 DUSHEIKO, A.A.
Biological function of vitamin A
Ukrainskij biochimickij Zurnal 52: 387 - 396, 1980

50 FASTH, A., S. AHLSTEDT, L.A. HANSON, B. JANN, K. JANN, B. KAIJSER
Cross reactions between the Tamm-Horsfall glycoprotein and Escherichia coli
Int. Archs. Allergy appl. Immun. 63: 303 -311, 1980

51 FATCH-MOGHADAM, A. M. KNEDEL
Proteinbestimmungen und immunologische Untersuchungen bei Nierenerkrankungen
Diagnostik 10: 664 - 667, 1977

52 FELIX, R., A. MONOD, L. BROGE, N.M. HANSEN, H. FLEISCH
Aggregation of calcium oxalate crystals: effect of urine and various inhibitors
Urol. Res. 5: 21 - 28, 1977

53 FERRANDO, R., CL. FOURLON, I. CLECH
Rapport vitamine A - vitamine D_3 chez le rat en croissance
J. Internat. Vitaminol. Nutr. 47: 157 - 161, 1977

54 FLETCHER, A.P.
The Tamm-Horsfall glycoprotein
In: GOTTSCHALK, A. (Ed.)
Glycoproteins. Part B
Elsevier Publ. Co., Amsterdam, London, New York: 1972, pp. 892 - 908

55 FRIEDMAN, T.
Immunfluorescent localization of Tamm-Horsfall mucoprotein
Experientia 22: 624 - 625, 1966

56 FUJIMAKI, J.
Formation of urinary and bile duct calculi in animals fed on experimental rations
Jap. Med. World 6: 29 - 35, 1926

57 GEDIGK, P., V. TOTOVIĆ
Zell- und Gewebsschäden
In: EDER, M., P. GEDIGK (Hrsg.)
Lehrbuch der allgemeinen Pathologie und der pathologischen Anatomie (30. Auflage)
Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York: 1977, pp. 1 - 68

58 GERSHOFF, S.N., R.B. MCGANDY
The effects of vitamin A deficient diets containing lactose in producing bladder calculi and tumors in rats
Am. J. Clin. Nutr. 34: 483 - 489, 1981

59 GOLDBLATT, H., M. BENISCHEK
Vitamin A deficiency and metaplasia
J. Exper. Med. 46: 699 - 707, 1927

60 GOODMAN, D.S.
Vitamin A metabolism
Fed. Proc. 39: 2716 - 2722, 1980

61 GREENWALD, I.
The dissociation of some calcium salts
J. Biol. Chem. 124: 437 - 452, 1938

62 GREY, H.M., R.T. KUBO, S.M. COLON, M.D. POULIK, P. CRESSWELL, T. SPRINGER, M. TURNER, J.L. STROMINGER
The small subunit of HL-A antigen is $ß_2$-microglobulin
J. Exp. Med. 138: 1608 - 1612, 1973

63 GROSS, R.
Erkrankungen der weißen Blutzellen (Leukozytopoese) und der blutbildenden Organe
In: GROSS, R., P. SCHÖLMERICH (Hrsg.)
Lehrbuch der Inneren Medizin (5. Auflage)
F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart, New York: 1977, pp. 145 - 178

64 HAAS, H.G.
Calciumhormone, Skelett und Mineralstoffwechsel
In: SIEGENTHALER, W. (Hrsg.)
Klinische Pathophysiologie (4. Auflage)
G. Thieme Verlag, Stuttgart: 1979, pp. 335 - 358

65 HARDWICKE, J.
Proteinuria
The Scientific Basis of Medicine, Annual Reviews: 1970, pp. 211 - 229

66 HASTINGS, A.B., F.C. MCLEAN, L. EICHELBERGER, J.L. HALL, E. DA COSTA
The ionization of calcium, magnesium and strontium citrates
J. Biol. Chem. 107: 351 - 370, 1934

67 HAUSSMANN, A.
Wertigkeit proteinchemischer Untersuchungsmethoden in der Diagnostik von Nieren- und Harnwegserkrankungen
Med. Diss. Tübingen: 1979

68 HEDENBERG, I.
Macroscopic and microscopic changes and stone formation in the urinary tract in experimentally produced vitamin A deficiency in rats
Act. Chir. Scand. suppl. 192: 1954

69 HERMANN, G. ST. DEVAUX, CH. CYR
Les protéines urinaires provenant de tissu rénal
In: PEETERS, H. (Ed.)
Proteides of the biological fluids
Proceedings of the 11th Colloquium, Bruges: 1963, pp. 494 - 498

70 HODGES, R.E.
Haematopoetic studies in vitamin A deficiency
Amer. J. Clin. Nutr. 31: 876 - 885, 1978

71 HODGKINSON, A.
The relation between citric acid and calcium metabolism with particular reference to primary hyperparathyroidism and idiopathic hypercalciuria
Clin. Sci. 24: 167 - 178, 1963

72 KARLSSON, F.A., K. HELLSING
Urinary protein excretion in early infancy
J. Pediatrics 89: 89 - 90, 1976

73 KEUTEL, H.J.
Localization of uromucoid in human kidney and in sections of human kidney stones with the fluorescent antibody technic
J. Histochem. Cytochem. 13: 155 - 160, 1965

74 KIM, Y.L., G. WOLF
Vitamin A deficiency and the glycoproteins of rat corneal epithelium
J. Nutr. 104: 710 - 718, 1974

75 KINNE-SAFFRAN, E., R. KINNE
Localization of a calcium-stimulated ATPase in the basal-lateral plasma membranes of the proximal tubule of rat kidnea cortex
J. Membr. Biol. 17: 263 - 274, 1974

76 KIORPES, T.C., S.J. MOLICA, G. WOLF
A plasma glycoprotein depressed in vitamin A deficiency in the rat: a_1 - macroglobulin
J. Nutr. 106: 1659 - 1667, 1976

77 KIRCHNER, C., K.H. BICHLER
Uromucoid in the rat: its isolation, localization in the kidney and concentration in the urine
Urol. Res. 4: 119 - 123, 1976

78 KLAUS, D., F. HENI
Erkrankungen der Nebennierenrinde
In: GROSS, R., P. SCHÖLMERICH (Hrsg.)
Lehrbuch der Inneren Medizin (5. Auflage)
F.K. Schattauer Verlag, Stuttagrt, New York:
1977: pp. 737 - 764

79 KNAPPWOST, A.
persönliche Mitteilung

80 KODICEK, E.
The story of vitamin D - From vitamin to hormone
Lancet, March 2: 325 - 329, 1974

81 KORN, S., W. BAUSCH, K.H. BICHLER
Wertigkeit quantitativer Harnsteinanalysen
Therapiewoche 31: 1280 - 1283, 1981

82 KRØLL, J.
Tandem-crossed immunoelectrophoresis
In: AXELSEN, N.H., J. KRØLL, B. WEEKE (Ed.)
Quantitative immunoelectrophoresis
Universitetsforlaget Oslo, Bergen, Tromsø:
1973, pp. 57 - 59

83 LASSITER, W.C., C.W. GOTTSCHALK, M. MYLLE
Micropuncture study of renal tubular reabsorption of calcium in normal rodents
Am. J. Physiol. 204: 771 - 775, 1963

84 LAURELL, C.B.
Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies
Analyt. Biochem. 15: 45 -52, 1966

85 VAN LEERSUM, E.C.
Vitamin A deficiency and urolithiasis
J. Biol. Chem. 76: 137 - 142, 1928

86 VAN LEERSUM, E.C.
Vitamin A deficiency and calcification of the epithelium of the kidney
J. Biol. Chem. 79: 461 - 463, 1928

87 LEHNINGER, A.L.
Biochemie (2. Auflage)
Verlag Chemie, Weinheim, New York: 1977

88 LEWIS, R.A., R.H. SCHWARTZ, E.A. SCHENK
Tamm-Horsfall mucoprotein. II. Ontogenetic development
Lab. Invest. 26: 728 - 730, 1972

89 DE LUCA, L.M.
The direct involvement of vitamin A in glycosyl transfer reactions of mammalian membranes
Vit. Horm. 35: 1 - 57, 1977

90 DE LUCA, L.M., M. SCHUMACHER, G. WOLF
Biosynthesis of a fucose-containing glycopeptide from a rat small intestine in normal and vitamin A-deficient conditions
J. Biol. Chem. 245: 4551 - 4558, 1970

91 LUX, B., J. BRAUN, P. MAY, H. MEIER
Ausscheidung von Citrat, Calcium und Magnesium bei Harnsteinbildnern
In: VAHLENSIECK, W., G. GASSER (Hrsg.)
Pathogenese und Klinik der Harnsteine VIII
Steinkopff Verlag, Darmstadt: 1981, pp. 92 -95

92 MAJUMDAR, B.N., B.N. GUPTA
Vitamin A deficiency and urinary calculi in goats
Ann. Biochem. Exper. Med. 19: 249 - 254, 1959

93 MCCARRISON, R.
A lecture on the causation of stone in India
Brit. Med. J. 18: 1009 - 1015, 1931

94 MCKENZIE, J.K., E.G. MCQUEEN
Immunfluorescent localization of Tamm-Horsfall mucoprotein in human kidney
J. Clin. Path. 22: 334 - 339, 1969

95 MCQUEEN, E.G., J.K. MCKENZIE, R. PATEL, G.B. ENGEL
Urinary mucoprotein and cast formation
N. Z. Med. J. 67: 311 - 315, 1968

96 MEYER, J.L., L.H. SMITH
Growth of calcium oxalate crystals. H. Inhibition of natural urinary crystal growth inhibitors
Invest. Urol. 13: 36 - 39, 1975

97 MICHAELSON, J., E. ROTHENBER, E.A. BOYSE
Genetic polymorphism of murine $ß_2$-microglobulin detected biochemically
Immunogenetics 11: 93 - 95, 1980

98 MORRIS, E.R., B.L. O'DELL
Effect of magnesium deficiency in guinea pigs on kidney function and plasma ultrafiltrable ions
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 132: 105 - 110, 1969

99 MURAYAMA, Y., F. MOREL, C. LEGRIMELLEC
Phosphate, calcium and magnesium transfer in proximal tubules and loops of Henle, as measured by single nephron microperfusion experiments in the rat
Pflügers Arch. 333: 1 - 16, 1972

100 MOURIQUAND, G., J. ROLLET, V. EDEL, H. PAPE, H. TETE
Déséquilibre alimentaire et notion de "terrain" la lithiase urinaire liée à l'avitaminose A
Press. Med. 48: 529 - 530, 1940

101 ORITA, Y., N. IMAI, N. UEDA, K. AOKI, K. SUGIMOTO, A. ANDO, Y. FUJIWARA, S. HIRANO, H. ABE
Immunofluorescent studies of urinary casts
Nephron 19: 19 - 25, 1979

102 OSBORNE, T.B., L.B. MENDEL, E. FERRY
The incidence of phosphatic urinary calculi in rats fed on experimental rations
J. A. M. A. 69: 32 - 33, 1917

103 POLLAK, V.E., C. ARBEL
The distribution of Tamm-Horsfall mucoprotein (uromucoid) in the human nephron
Nephron 6: 667 - 672, 1969

104 RAMM, B., G. HOFMANN
Biomathematik und medizinische Statistik
F. Enke Verlag, Stuttgart: 1976

105 RAVE, O., H. WAGNER, G. JUNGE-HÜLSING, W.H. HAUSS
Tierexperimentelle Untersuchungen über die Wirkung von Vitamin A auf den Bindegewebsstoffwechsel
Z. Rheumaforschung 31: 245 - 253, 1972

106 RICH, C., N. DIFERRANTE, R.M. ARCHIBALD
Acid mucopolysaccharide excretion in the urine of children
J. Lab. Clin. Med. 50: 686 - 691

107 ROBERTSON, W.G., M. PEACOCK, P.J. HEYBURN, D.H. MARSHALL, P.B. CLARK
Risk factors in calcium stone disease of the urinary tract
Brit. J. Urol. 50: 449 - 454, 1978

108 SAITO, H.
Urinary mucoproteins. First report: comparison of isolation methods and partial characterization of the biochemical properties
日泌尿会誌 62: 431 - 438, 1971

109 SALLIS, J.D., M.F. LUMLEY
On the possible role of GAG as natural inhibitors of calcium oxalate stones
Invest. Urol. 16: 296 - 299, 1979

110 SCHAEVERBEKE, J., M. CHEIGNON
Differentiation of glomerular filter and tubular reabsorption apparatus during foetal development of the rat kidney
J. Embryol. Exp. Morph. 58: 157 - 175, 1980

111 SCHENK, E.A., R.H. SCHWARTZ, R.A. LEWIS
Tamm-Horsfall mucoprotein. I. Localization in the kidney
Lab. Invest. 25: 92 - 95, 1971

112 SCHULTZE, H.E., J.F. HEREMANS
Molecular biology of human proteins with special reference to plasma proteins. Vol.1: Nature and metabolism of extracellular proteins
Elsevier Publ. Co., Amsterdam: 1966

113 SCHÜEP, W.
In Vorbereitung

114 SCHWILLE, P.O., D. SCHOLZ, M. PAULUS, W. ENGELHARDT, A. SIGEL
Citrate in daily and fasting urine
Invest. Urol. 16: 457 - 462, 1979

115 SCHWILLE, P.O., B. VIEBECK
Versuche zur diätabhängigen Konkrementbildung bei der Ratte
In: VAHLENSIECK, W., G. GASSER (Hrsg.)
Pathogenese und Klinik der Harnsteine II
Steinkopff Verlag, Darmstadt: 1974, pp. 167 - 168

116 SHUSTER, J., P. GOLD, M.D. POULIK
$ß_2$-microglobulin levels in cancerous and other disease states
Clin. Chim. Acta 67: 307 - 313, 1976

117 STUMPF, W.E., M. SAR, F.A. REID, Y. TANAKA, H.F. DE LUCA
Target cells for 1,25-Dihydroxyvitamin D_3 in intestinal tract, stomach, kidney, skin, pituitary and parathyroid
Science 206: 1188 - 1190, 1979

118 SUKI, W.N.
Renal handling of calcium
Contr. Nephr. 23: 1 - 10, 1980

119 TAMM, I., F.L. HORSFALL jr.
Characterization and separation of an inhibitor of viral haemagglutination present in urine
Proc. Soc. Exp. Biol. 74: 108 - 114, 1950

120 TAMM, I., F.L. HORSFALL jr.
A mucoprotein derived from human urine which reacts with influenza, mumps and Newcastle disease virus
J. Exp. Med. 95: 71 - 97, 1952

121 TESTA, G.
Calculosi urinaria e vitamina A
Arch. Ital. Chir. 48: 907 - 910, 1938

122 ULLRICH, K.J., G. RUMRICH, S. KLOSS
Active Ca^{++} reabsorption in the proximal tubule of the rat kidney
Pflügers Arch. 364: 223 - 228, 1976

123 WALD, G.
Molecular basis of visual excitation
Science 162: 230 - 239, 1980

124 WEEKE, B.
Rocket immunoelectrophoresis
In: AXELSEN, N.H., J. KRØLL, B. WEEKE (Ed.)
Quantitative immunoelectrophoresis
Universitetsforlaget Oslo, Bergen, Tromsø :
1973, pp. 37 - 46

125 WELSHMAN, S.G., M.G. MCGEOWN
Urinary citrate excretion in stone-formers and normal controls
Brit. J. Urol. 48: 7 - 12, 1976

Die Anregung zu dieser Arbeit ging von Herrn Prof. Dr. K.-H. Bichler aus, dem ich für die bereitwillige Unterstützung bei der Durchführung der Untersuchungen und besonders für die stetige Beratung während des Verfassens der Dissertation zu großem Dank verpflichtet bin.

Weiterhin danke ich Herrn Dr. H. Weiser, Hoffmann-La Roche & Co AG, Basel, Schweiz, für die Hilfe bei der Versuchstierhaltung und für die Durchführung der Vitamin A-Bestimmungen.

Herrn Prof. Dr. P. Schmitz-Moormann, Pathologisches Institut der Philipps-Universität Marburg, danke ich für die histologischen Untersuchungen der Rattennieren und -harnblasen.

Außerdem möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Nierenfunktionslabors der Abteilung für Urologie, besonders der damaligen Leiterin, Frau S. Korn, für ihr Entgegenkommen und ihre Hilfe bei der Durchführung der Laboruntersuchungen danken.

LEBENSLAUF

Am 27.05.1957 wurde ich, Walter Ludwig Strohmaier, als Sohn des Metzgermeisters Otto Georg Strohmaier und seiner Ehefrau Katharina Luise geb. Eckes in Stuttgart geboren. Nach dem Besuch der Grundschule (Wagenburgschule Stuttgart) von 1964 bis 1967 wechselte ich auf das humanistische Karls-Gymnasium Stuttgart. Dort bestand ich im Mai 1976 die Reifeprüfung.

Von 1976 bis 1978 studierte ich an der Universität Tübingen Zahnmedizin. Im Herbst 1977 absolvierte ich dort die naturwissenschaftliche Vorprüfung für Zahnärzte.

Im Sommersemester 1978 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Universität zu Köln. Die ärztliche Vorprüfung bestand ich 1979. Zum Sommersemester 1980 wechselte ich an die Universität Tübingen. Den ersten und zweiten Abschnitt der ärztlichen Prüfung legte ich dort 1980 bzw. 1982 ab.
Das sogenannte Praktische Jahr absolvierte ich an der Abteilung für Urologie der Universität Tübingen und am Diakonissenkrankenhaus Stuttgart. Den dritten Abschnitt der ärztlichen Prüfung bestand ich am 21.10. 1983 in Stuttgart.